



Universidade de Aveiro
2015

Departamento de Biologia

**António João de
Oliveira Marques
Metello**

**Osteossarcoma, Quimioterapia HDMTX e Reflexos
Laboratoriais**



**António João de
Oliveira Marques
Metello**

**Osteossarcoma, Quimioterapia HDMTX e Reflexos
Laboratoriais**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biologia Aplicada, realizada sob a orientação científica do Doutor Fernando Manuel Raposo Morgado, Professor Associado com Agregação do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro e co-orientação científica da Doutora Margarida Sâncio da Cruz Fardilha, Professora Auxiliar convidada da Secção Autónoma de Ciências da Saúde da Universidade de Aveiro.

o júri

Presidente

Prof. Doutor António José Arsénia Nogueira
Professor Associado C/ Agregação, Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro

Arguente Principal

Prof. Doutor António José Monteiro Amaro
Professor Coordenador S/ Agregação, Escola Superior de Saúde, Universidade de Aveiro

Orientador

Prof. Doutor Fernando Manuel Raposo Morgado
Professor Associado C/ Agregação, Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro

dedicatória

Aos meus Pais por sempre terem acreditado e preocupado e pela vossa transmissão de ensinamentos e valores.

À Anabela, ao Bruno e à Daniela, a minha razão de existência, trabalho e dedicação. Obrigado por muito terem aturado e sofrido com as minhas faltas de paciência, inconstâncias de humor e psicológicas. Este trabalho é também para vós.

agradecimentos

Aos meus orientadores, Prof. Fernando Morgado e Prof. Margarida Fardilha, pelos seus estímulos e conselhos, embora muitas vezes não os tenha reconhecido. E à Juliana, pela sua enorme dose de paciência.

Aos meus sogros, pelo estímulo.

Ao Dr. Paulo Freitas Tavares, pelo seu apoio, disponibilidade e críticas. O meu enorme obrigado por ter sempre acreditado e ajudado.

Ao Miguel, à Vera, à Paula e ao Francisco: amigos, colegas e companheiros de andanças. O meu muito obrigado pelos vossos apoios, conselhos e ajudas: bem hajam. Tornaram as coisas mais fáceis e aceitáveis.

Ao Vitor e à Gi, ao César e à Ziza, ao Luís e à Lídia. Obrigado.

A todos os outros...

Palavras-chave

Osteossarcoma, Metotrexato Alta-Dose (HDMTX),
Quimioterapia Neoadjuvante, Dihidrofolato Redutase,
Sarcoma Osteogénico

resumo

O osteossarcoma ou sarcoma osteogénico (OS) é o tumor maligno primário mais comum de origem óssea que ocorre em crianças e adultos jovens. Este tumor surge a partir de células mesenquimais e é histologicamente caracterizado pela presença de células fusiformes e formação aberrante de osteóide. A incidência desta neoplasia apresenta uma distribuição bimodal, com um primeiro pico na adolescência e um segundo pico a ocorrer entre a 6ª e a 7ª década de vida.

A maioria dos pacientes apresenta doença localizada à data do diagnóstico, e destes, aproximadamente 15 a 20% apresentam metástases detectáveis, em especial, pulmonares.

A abordagem terapêutica ao OS engloba quimioterapia pré-operatória (neoadjuvante) seguida de ressecção cirúrgica do tumor primário e de todas as metástases visíveis e de quimioterapia pós-operatória (adjuvante).

Historicamente, muitos agentes foram testados e usados no tratamento do OS, mas desde os anos 90 até à actualidade, o esquema de tratamento baseia-se na utilização de três agentes: Metotrexato (MTX), Doxorrubicina (A) e Ciclofosfamida (P), podendo ou não ser incluído um 4º agente, a Ifosfamida (I) ou o Ectopósido (E). Para surtir efeito, o MTX é administrado em alta dose, habitualmente de 12g/m², podendo ir até 20g/m², apresentando vários efeitos adversos.

Como tal, outros agentes quimioterápicos têm sido testados, assim como outros tipos de tratamento e alvos, com o intuito de melhorar a performance e a sobrevida sem recorrência. A identificação de biomarcadores que permitam o diagnóstico, prognóstico e monitorização da terapia tem sido outra das principais linhas de investigação relacionadas com o OS.

O objetivo deste trabalho centra-se na revisão da importância do tratamento neoadjuvante enquanto fator prognóstico do OS, e da monitorização laboratorial na utilização do MTX por forma a evitar efeitos secundários.

keywords

Osteosarcoma, High-Dose Methotrexate (HDMTX), Neoadjuvant Chemotherapy, Dihydrofolate Reductase, Osteogenic Sarcoma

abstract

Osteosarcoma or osteogenic sarcoma (OS) is the most common primary malignant tumor of bone origin that occurs in children and young adults. This tumor arises from mesenchymal cells and is histologically characterized by the presence of spindle cells, and aberrant osteoid formation. The incidence of this tumor shows a bimodal distribution with a first peak in adolescence and a second peak occurs between the 6th and 7th decade of life.

The majority of patients have disease localized at diagnosis and of these, approximately 15 to 20% have detectable metastases, in particular lung.

The therapeutic approach to the OS includes preoperative chemotherapy (neoadjuvant) followed by surgical resection of the primary tumor and metastases of all visible and postoperative chemotherapy (adjuvant).

Historically, many agents have been tested and used in treatment of OS, but since the 90s until today, the treatment regimen is based on the use of three agents: methotrexate (MTX), doxorubicin (A) and cyclophosphamide (P), may or may not be included in a 4th agent, Ifosfamide (I) or Ectopósido (E). To take effect, MTX is administered in high doses, usually 12g / m² and may go up to 20g / m², with several adverse effects.

As such, other chemotherapeutic agents have been tested, as well as other types of treatment targets, and, in order to improve performance and survival without relapse. The identification of biomarkers which allow the diagnosis, prognosis, and monitoring of therapy has been the other of the main lines of research related to the OS.

This paper focuses on the review of the importance of neoadjuvant treatment as a prognostic factor of OS, and laboratory monitoring in the use of MTX in order to avoid side effects.

Índice

ÍNDICE.....	1
ÍNDICE DE FIGURAS.....	2
ÍNDICE DE TABELAS.....	3
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	4
1. INTRODUÇÃO	7
2. SARCOMAS ÓSSEOS	11
2.1. OSTEOSSARCOMA.....	13
2.1.1. <i>Etiologia</i>	16
2.1.2. <i>Diagnóstico</i>	16
2.1.3. <i>Prognóstico</i>	18
2.1.4. <i>Quimioterapia</i>	19
3. METOTREXATO	23
4. REFLEXOS LABORATORIAIS.....	29
5. OUTRAS ABORDAGENS AO OS PARA ALÉM DAS ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS CORRENTES..	33
6. DISCUSSÃO	35
7. CONCLUSÃO	37
8. REFERÊNCIAS	39
9. ANEXO.....	53

Índice de Figuras

FIGURA 1: ANALOGIAS NAS ESTRUTURAS MOLECULARES DO ÁCIDO FÓLICO E METOTREXATO	23
FIGURA 2: METABOLISMO INTRACELULAR DO MTX E FORMAS BIOQUÍMICAS RESULTANTES	26
FIGURA 3: EFEITOS CELULARES DO MTX	28

Índice de Tabelas

TABELA 1: CLASSIFICAÇÃO DO TUMORES ÓSSEOS	12
TABELA 2: CLASSIFICAÇÃO E ESTADIAMENTO DOS TUMORES ÓSSEOS SEGUNDO A AJCC E WHO	12
TABELA 3: PRINCIPAIS ESTUDOS EFECTUADOS SOBRE A QUIMIOTERAPIA NO OS	20

Índice de Abreviaturas

AINEs	Anti-inflamatórios Não Esteróides
AJCC	American Joint Committee on Cancer
ALT	Alanina Amino Transferase
AST	Aspartato Amino Transferase
BUN	Azoto Ureico
CDP	Cisplatina
CEA	Antigénio Carcino Embrionário
Cl	Cloro
DAMPA	Ácido 2,4-Diamino-N ¹⁰ -Metilpteróico
DHFR	Dihidrofolato Reductase
DOX	Doxorrubicina
FAlc	Fosfatase Alcalina
FBP	Proteína de Ligação ao Folato
FPGS	FoliPoliglutamato Sintetase
HDMTX	Metotrexato em Alta Dose
IFO	Ifosfamida
IV	Intravenosa
LDH	Desidrogenase Láctica
LLA	Leucemia Linfoblástica Aguda
LOH	Perda da Heterozigosidade
LV	Leucovorina
K	Potássio
MAP	Protocolo Quimioterápico com Metotrexato em Alta Dose, Doxorrubicina (Adriamicina) e Cisplatina
MTX	Metotrexato
MTXPG	Poliglutamato de Metotrexato
Na	Sódio
OS	Osteossarcoma

PCR	Proteína C Reactiva
PET	Tomografia por Emissão de Positrões
PSA	Antigénio Específico da Próstata
RFC	Transportador de Folato Reduzido
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RT	Radioterapia
SMNs	Neoplasias Secundárias Malignas
SNC	Sistema Nervoso Central
TC	Tomografia Computadorizada
TMS	Timidilato Sintetase
VS	Velocidade de Sedimentação Eritrocitária
WHO	World Health Organization

“ ... os agentes quimioterapêuticos não acabam em si próprios, no seu funcionamento e actividade, mas a sua enorme importância é a de nos fornecer ferramentas para abrir portas e caminhos, pesquisando mistérios da natureza. É esta abordagem que nos tão bem tem servido e que nos levou a novas áreas da investigação médica. A selectividade continua a ser o nosso objectivo e a sua compreensão o guia para o nosso futuro.”

Gertrude Elion – Bioquímica e Farmacêutica – Prémio Nobel da Medicina e Fisiologia em 1988

“ . . . chemotherapeutic agents are not only ends to themselves but also serve as a tools for unlocking doors and probing Nature’s mysteries. This approach has served us well and led into many new areas of medical research. Selectivity remains our aim and understanding its basis our guide to the future”

Gertrude Elion – Biochemist and Pharmacologist – 1988 Nobel Prize of Medicine and Physiology

1. Introdução

Os tumores ósseos malignos primários representam cerca de 0,2% dos casos novos anuais de diagnóstico neoplásico na faixa etária 15 – 19 anos, sendo reconhecido como a terceira maior causa de morte entre os adolescentes com cancro, apenas sendo ultrapassado neste grupo pelos linfomas e tumores cerebrais. As diferenças nas suas diversas formas, residem na histologia da célula original. Os sarcomas ósseos mais comuns são: osteossarcoma (45%), condrossarcoma (22%), e sarcoma de Ewing (15%).

A incidência desta neoplasia aponta para as extremidades ósseas sobretudo do fêmur distal, tíbia proximal e humero proximal, onde mais de metade da incidência envolve a articulação do joelho, sendo que estas zonas de incidência são mais comuns nos jovens, porquanto nos adultos de mais de 60 anos, desenvolvem mais nos ossos chatos.

A compreensão da biologia dos OS continua a ser um desafio bastante complexo. Etiologia desconhecida, alta instabilidade genética das células do OS, grande heterogeneidade celular, aliada à falta de biomarcadores, à alta agressividade local e ao grau potencial metastático, criam questões e desafios enormes que se tentam responder.

Existem alguns factores associados ao aumento de incidência, como seja a idade – indivíduos mais novos têm maior preponderância que os mais velhos, o sexo – sexo masculino tem cerca de 1,5 x mais incidência que o sexo feminino, a exposição a radiações, a existência prévia da doença de Paget óssea, e alguma predisposição genética, associada ao retinoblastoma, aos defeitos na p53 incluindo o síndrome de Li-Fraumeni e mutações na família dos genes RecQ nos síndromes de Werner, Bloom e Rothmund-Thomson.

Após a introdução da quimioterapia nos anos 70, o tratamento do osteosarcoma de alto grau obteve avanços importantes, mas as taxas de sobrevivência continuam a ser insatisfatórias, em especial no que concerne aos doentes com recaídas e/ou metastização. O osteossarcoma aumentou muito a percentagem de cura desde a introdução da quimioterapia adjuvante (pós-operatória) e neoadjuvante (pré-operatória). As taxas de sobrevivência que no início da era pré-quimioterapia rondavam cerca de 20%, passaram agora para os 55 – 70%, não havendo melhorias desde o início dos anos 90.

A estratégia terapêutica corrente compreende a quimioterapia neoadjuvante, seguida de ablação cirúrgica os focos de doença detectáveis, incluindo as metástases, e quimioterapia pós-operatória. O OS é uma malignidade considerada como resistente às doses habituais de radiação. Por isso mesmo, os regimes quimioterapêuticos envolvidos no tratamento do OS, são baseados essencialmente na utilização de 3 drogas: metotrexato em alta-dose (HDMTX) com resgate por leucovorina, doxorubicina (adriamicina) e cisplatina, com a hipótese de adição de uma quarta droga, a ifosfamida. Estes agentes estão integrados em variados regimes e protocolos quimioterapêuticos.

O tratamento quimioterápico do OS está associado a importantes efeitos tóxicos secundários, quer de curta duração, quer a longo termo. Efeitos tóxicos agudos, tais como alopecia, mucosite, mielossupressão, náuseas e vômitos são complicações comuns na maioria dos regimes quimioterápicos usados. HDMTX em regimes quimioterapêuticos MAP é administrado habitualmente na dose de 12g/m^2 (podendo ir até 20g/m^2), com hidratação e alcalinização para promover a eliminação do MTX (por forma a evitar a toxicidade renal e hepática) e resgate com leucovorina (para proteger as células normais da depleção do folato ou ácido fólico e a mielossupressão). A cardiotoxicidade a longo prazo está acima de tudo associada à Doxorubicina.

A monitorização laboratorial das diversas funções fisiológicas, continua a ser uma das importantes balizas da eficácia da HDMTX e da prevenção dos efeitos secundários adversos, mesmo tomando as precauções adequadas. Laboratorialmente, a medição das concentrações séricas dos electrólitos (Sódio-Na, Potássio-K, e Cloro-Cl), Creatinina (Cre) e Azoto Ureico (BUN) avaliam a função renal, as concentrações séricas das Transaminases (AST e ALT), Fosfatase Alcalina (FAlc) avaliam a função hepática, as concentrações séricas da Desidrogenase Láctica (LDH) e Creatina Kinase (CK) a função cardíaca, a contagem plasmática de eritrócitos (GV), leucócitos (GB) e subpopulações (fórmula leucocitária) e contagem de plaquetas avaliam a função hematológica e por último, as concentrações séricas de MTX às 6, 12, 24, 48 e 72H, avaliam a eficácia da metabolização do MTX pelo organismo.

São necessários novos desenvolvimentos que poderão passar pela abordagem terapêutica mais eficaz, reduzindo complicações associadas, pela descobertas de novas drogas que possam induzir maior grau de necrose com menos efeitos secundários, pela descoberta de novos alvos e vias moleculares que possam trazer melhorias na sobrevida do doente, mas

também pelo uso de novas tecnologias, como técnicas cirúrgicas associadas à navegação, informatização e sistematização de toda a informação por forma a poder-se tentar criar informaticamente algo que possa diagnosticar a doença residual mínima, e uso de tecnologias actuais mas não habituais nesta área e ainda em desenvolvimento, como a citometria de fluxo e a hibridização de fluorescência *in situ*.

2. Sarcomas Ósseos

Sarcomas são neoplasias raras do tecido conjuntivo de origem mesenquimatosa, contabilizando menos de 1% de todas as neoplasias, podendo surgir nas partes moles – sarcomas dos tecidos moles – e ossos – sarcomas ósseos – embora haja alguns tipos originários de outros tecidos, da neuroectoderme, casos ainda mais raros. Os sarcomas são biologicamente diferentes dos cânceros epiteliais mais comuns. Podem aparecer em todas as faixas etárias, desde os mais jovens até indivíduos com mais de 55 anos de idade.¹

Os sarcomas ósseos representam cerca de 0,2% da totalidade dos tumores malignos, mas ainda assim, representam cerca de 2400 novos casos por ano nos EUA e em Inglaterra.¹⁻³

Atualmente distinguem-se vários subgrupos de sarcomas ósseos que incluem o Osteossarcoma (OS), o Sarcoma de Ewing, o Condrossarcoma e o Fibrohistiocitoma Maligno, por esta ordem de importância. Enquanto que o OS e o Sarcoma de Ewing são mais encontrados nos adolescentes e nos jovens adultos, o Condrosarcoma e o Fibrohistiocitoma Maligno são mais comuns na população adulta e nos idosos.²⁻⁴

Existem muitas formas de classificar os tumores ósseos. A classificação mostrada na tabela 1 é semelhante à usada por Lichtenstein, com o propósito de tentar estabelecer uma relação entre os tumores benignos e os malignos, uma vez que apenas uma percentagem reduzida dos mesmos se originam do tumor benigno. Nalguns casos, os tumores surgem do tipo de tecido que eles produzem, embora esta hipótese ainda permaneça em aberto. Em qualquer caso, a classificação básica sobre o que está na realidade a ser observado no exame histológico permite a reduplicação dos resultados na análise subsequente.^{5,6}

Existem vários modelos de estadiamento dos tumores ósseos, mas regra geral foram desenvolvidos sob a coordenação da *American Joint Committee for Cancer Staging and End Results Reporting (AJCC)*. Os tumores são estadiados segundo o grau da neoplasia e da extensão do envolvimento.⁷⁻⁹

Tabela 1: Classificação do Tumores Ósseos^{8,9}

Benignos	Condrogênicos	Osteocondroma Condroma Condroblastoma Fibroma condromixóide
	Osteogênicos	Osteoma osteóide Osteoblastoma
	Origem desconhecida	Tumor de células gigantes
	Histiocítico	Fibrohistiocitoma
	Notocordal	
	Vasculares	Hemangioma
	Lipogênicos	Lipoma
	Neurogênico	Neurilemoma
Malignos	Hematopoiéticos	Mieloma Linfoma maligno
	Condrogênicos	Condrossarcoma 1 ^a Condrossarcoma 2 ^o Condrossarcoma indiferenciado Células claras
		Mesenquimal
		Osteossarcoma
		Osteossarcoma paraosteal
	Osteogênicos	Tumor de Ewing Tumor maligno de células gigantes Adamantimoma
		Fibrohistiocitoma maligno
		Fibroma desmoplásico
		Fibrossarcoma
	Fibrogênicos	Cordoma
		Angiossarcoma
	Notocordal	Hemangiopericitoma
	Vasculares	Lipossarcoma
	Lipogênicos	
	Neurogênicos	

Muitos destes tumores ósseos afectam crianças e poderão ser controlados com cirurgia radical, com ou sem radioterapia e quimioterapia, que poderão ter efeitos secundários importantes.¹⁰

Tabela 2: Classificação e estadiamento dos tumores ósseos segundo a AJCC e WHO^{8,9}

Grau Histopatológico (G)	
GX	O grau não pode ser avaliado
G1	Bem diferenciado, baixo grau
G2	Moderadamente diferenciado, baixo grau
G3	Diferenciação insatisfatória, alto grau
G4	Indiferenciado
Tumor Primário (T)	

TX	O tumor primário não pode ser avaliado
T0	Sem evidência de tumor primário
T1	Tumor confinado ao córtex
T2	Tumor para além do córtex
T2a	Tumor ≤ 8 cm na sua maior dimensão
T2b	Tumor > 8 cm na sua maior dimensão
Linfonodos Regionais AND	
NX	Os linfonodos regionais não podem ser avaliados. Como o envolvimento ganglionar é raro nos sarcomas, a definição NX pode não ser adequada e poderá ser considerada como N0
N0	Sem metástases para os linfonodos regionais
N1	Metástases para os linfonodos regionais
Metástase à distância (M)	
MX	Metástase à distância não pode ser avaliada
M0	Sem metástases à distância
M1	Com metástases à distância
Estádios	
IA	G1-2, T1, N0, M0
IB	G1-2, T2, N0, M0
IIA	G3-4, T1, N0, M0
IIB	G3-4, T2, N0, M0
III	Não definido
IVA	Qualquer G, Qualquer T, N1, M0
IVB	Qualquer G, Qualquer T, Qualquer N, M1

2.1. Osteossarcoma

O OS é o sarcoma primário mais comum do osso, representando aproximadamente 20% de todos os sarcomas. O número de casos diagnosticados anualmente nos EUA e em Inglaterra é de cerca de 400 novos casos/ano.^{11,12}

Em Portugal não há dados disponíveis que possam indicar o número de novos casos/ano.

Segundo a AJCC⁸ e a WHO⁹, a definição de OS implica:

- tumor maligno formador de osso,
- presença de um estroma francamente sarcomatoso,

- formação de osteóide neoplásico e de osso pelos osteoblastos malignos.

Embora a produção de matriz osteóide esteja implícita no diagnóstico do OS, esta produção pode estar bem concentrada, e portanto, ser impossível identificá-la na amostragem do tecido recolhido. Por esse motivo, o diagnóstico de OS pode ser considerado aceitável mesmo quando não haja matriz osteóide bem definida na identificação. Para tal, a neoplasia terá que ter outros aspectos clássicos que permitam a sua identificação. Para um tumor qualificado, no qual são recolhidas amostras histológicas em vários pontos, elementos como diferenciação osteóide, condróide ou fibromatose podem ser predominantes^{2,3,5}. Assim, neste grupo, os OSs intramedulares convencionais de alto grau podem ser divididos entre os tipos histológicos, dependendo do elemento predominante^{3,5,12}:

- Osteoblásticos,
- Condroblásticos,
- Fibroblásticos,
- Mistos,
- Rico em células gigantes,
- Tipo Fibrohistiocitoma maligno,
- Parcialmente telangiectásico

No entanto, por vezes a dificuldade reside no facto de que, o que parece ser um tipo de OS na biópsia, pode revelar-se outro tipo de OS quando mais amostras de tecido são recolhidas, problema que evidencia a grande variação histopatológica observada no OS, assim como a enorme importância de uma análise histológica cuidada.^{5,13}

Existem outras formas de osteossarcomas diferentes do osteossarcoma intramedular clássico que são:^{5,14}

- Osteossarcoma de Superfície: Paraosteal, Periosteal e de Superfície de alto grau;
- Outras Variantes de Osteossarcoma: Células Pequenas; Intra-Ósseo bem diferenciado; Telangiectásico; Secundário à Irradiação; Secundário à Doença de Paget e Multicêntrico.

De acordo com a observação microscópica, o OS pode ser classificado histologicamente em: alto grau, grau intermédio e baixo grau de diferenciação. O grau de diferenciação indica ao médico o tipo de evolução esperada e como é que o tumor se poderá comportar no que à invasão dos tecidos vizinhos diz respeito. Por outro lado, é esta mesma

diferenciação que tem um papel importantíssimo, essencial mesmo, para o estabelecimento do tipo de abordagem terapêutica a ser utilizada.^{5,13-15}

Deste modo:

- Osteossarcoma de alto grau: é o tipo de crescimento mais rápido. Na observação microscópica, não aparecem evidências de células de tecido ósseo normal, aparecendo isso sim, enorme quantidade de células em processo de divisão celular activa. É deste subtipo que normalmente são os osteosarcomas incidentes nas crianças e jovens.
- Osteosarcomas de grau intermédio: são tumores incomuns, e que ficam entre os tumores classificados como de alto grau e de baixo grau e que são normalmente tratados como sejam de baixo grau.
- Osteosarcomas de baixo grau: são os osteosarcomas de crescimento lento. São aqueles tipos de tumores que à observação histológica apresentam a maioria das células como tecido ósseo normal, mas apresentam algumas células em processo de divisão activo.

A incidência do OS apresenta uma distribuição bimodal, com picos de incidência em adolescentes e idosos. A ocorrência de OS na adolescência está correlacionada com estatura alta, o que sugere uma ligação entre o crescimento ósseo rápido característico desta fase e a formação de tumores. O segundo pico de incidência ocorre em pacientes idosos e decorre de condições pré-existentes, como sejam a doença de Paget óssea pré-existente ou pós radioterapia. Os homens têm uma incidência de 1,5:1 em relação às mulheres, talvez por causa do maior crescimento em estatura, do período mais longo de crescimento e do maior volume de tecido em crescimento.^{12,16-19}

Nas crianças, adolescentes e jovens adultos, o OS ocorre com maior frequência nos ossos longos dos membros inferiores (cerca de 50% surgem em torno do joelho), enquanto que nos pacientes adultos e idosos, a distribuição anatómica do OS muda dos ossos longos para os ossos chatos.^{16-18,20,21}

Os locais mais comuns de ocorrência do OS são a articulação justaposta do joelho, envolvendo o fémur distal (43%) ou a tíbia proximal (23%), seguindo-se o úmero proximal (10%). Estes ossos denotam uma maior actividade de divisão celular para facilitarem o crescimento na adolescência. Por este motivo, pensa-se que os sinais estimuladores

associados ao desenvolvimento e crescimento pubertários poderão contribuir para a origem da oncogénese associada ao OS.^{16,21-23}

O OS central costuma incidir na região metafisária de um osso longo; quando a placa de crescimento ainda está presente, o tumor costuma permanecer na metáfise. Com a evolução e o crescimento do tumor, ocorre a destruição da placa epifisária e a invasão da epífise. São raros os casos em que o OS se localiza na epífise ou na diáfise dos ossos longos.^{5,22,24,25}

Em cerca de 75% dos casos o OS incide nos ossos longos tubulares, em especial nas crianças, adolescentes e jovens adultos. Nos idosos, os ossos longos tubulares apenas estão envolvidos em cerca de 40% dos casos de OS, havendo maior envolvimento dos ossos chatos do esqueleto.^{5,14,16,24,25}

2.1.1. Etiologia

As causas que levam ao aparecimento do OS são ainda desconhecidas, embora haja factores reconhecidos como sendo de risco para o desenvolvimento do OS, como a exposição a radiações (como resultado de tratamentos de outras doenças) ou a doença de Paget óssea (desordem óssea que leva ao aumento da actividade dos osteoclastos com o consequente aumento da actividade osteoblástica). É amplamente aceite a teoria de situações que provoquem sobrecarga na actividade osteoblástica, podem levar à mutação no ADN que por sua vez podem conduzir ao OS.^{5,11,13,14}

Por outro lado, há um certo número de anormalidades genéticas ligadas ao aparecimento do OS, como os síndromes de Li-Fraumeni (defeitos na p53), de Werner (defeitos no gene WRN), de Bloom (defeitos no gene BLM) e de Rothmund-Thomson (defeito no gene RECQL4). Defeitos na pRB e no funcionamento da p53 estão aqui também em evidência.²³⁻²⁶

2.1.2. Diagnóstico

Tal como noutros tumores ósseos, a sintomatologia do OS não é específica. Os principais sintomas são a dor, que no início pode ser intermitente, e o edema. Embora não sejam específicos, não devem de modo algum ser ignorados, em especial se aparecerem em

crianças, adolescentes ou jovens adultos. A sintomatologia costuma surgir vários meses antes do diagnóstico definitivo. Raramente o paciente apresenta comprometimento do estado geral, mesmos nos OS de grande tamanho.^{14,16,17}

As manifestações clínicas dos sarcomas ósseos podem sugerir o diagnóstico patológico antes da biópsia. Uma anamnese pertinente deve incluir qualquer relato de processo maligno, que poderá ser uma fonte de metástase para os ossos, ou tratamento anterior de Radioterapia (RT), que pode resultar num sarcoma induzido por radiação.^{2,5,10,26}

Crescimento rápido ou alteração numa lesão também favorecem a etiologia maligna. Na zona da lesão, pode também ocorrer o aumento da temperatura local e a presença de veias dilatadas na camada subcutânea pelo crescimento do tumor.^{5,6,10,16}

A história de trauma poderá estar presente, não havendo no entanto evidência que possa estar relacionada com o desencadear do OS. O mais provável é que o trauma, ocorrendo numa área já afectada pelo tumor, desencadeie um processo doloroso que transforma o OS até aquele momento assintomático em sintomático.^{5,6,16}

Dor localizada e intumescimento são as manifestações clínicas típicas características dos sarcomas ósseos, podendo o exame físico revelar uma massa palpável. Os exames neurovascular e ganglionar são regra geral normais.^{2,3,5,}

O diagnóstico e o estadiamento devem incluir biópsia e revisão da imagiologia adequada. Regra geral, o diagnóstico radiológico é feito sem problemas quando a destruição óssea está combinada com a formação de osso novo, mas a terapia definitiva não deverá ser iniciada sem confirmação através de biópsia. Isto porque existem OS com aparência benigna enganosa, podendo mesmo parecer apenas quistos ósseos.^{5,6,21}

Os exames imagiológicos devem incluir radiografias simples da lesão e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) ou Tomografia Computadorizada (TC). As radiografias biplanares do osso afectado são úteis para determinar o local específico de envolvimento do osso, o padrão e a magnitude da destruição óssea, alterações periosteais e mineralização da matriz no interior tumoral. A cintigrafia óssea com ⁹⁹Tc é muito importante para avaliar a extensão do tumor primário e a presença de metástases salteadas ou metástases ósseas à distância. A Tomografia por Emissão de Positrões (PET) é muito importante para avaliar o comportamento do tumor em relação à eficácia do tratamento. Estas duas últimas categorias de exames de aquisição imagiológica, tornaram-se mesmo uma ferramenta imprescindível para o uso cada vez mais comum da cirurgia preservadora do membro. Por

outro lado, de todos estes exames imagiológicos, apenas o mais simples, a radiografia convencional, não permite a detecção de metástases.^{5,6,14,27,28}

Há um interesse relativo nos exames laboratoriais no diagnóstico e prognóstico dos pacientes com OS central. O nível sérico da FAlc, que indica a actividade osteoblástica, é de valor relativo e pode estar elevado, principalmente nos OSs osteoblástico. No entanto, valores normais não invalidam o diagnóstico de OS, principalmente nas formas anaplásicas com pequena produção óssea, e tão pouco, na evolução, significam a cura do processo. A LDH também pode apresentar valores elevados no OS.^{6,29-31}

Um estadiamento cuidadoso deve preceder o tratamento de tumores do esqueleto. O ideal é que o estadiamento e a biópsia sejam realizados pelo cirurgião que irá realizar a cirurgia definitiva. Frequentemente, biópsias mal realizadas provocam a extensão extracompartmental de uma lesão que até esse momento era intracompartmental. Da mesma forma, a formação de hematomas e complicações na cicatrização da ferida da biópsia devem ser evitadas. Regra geral, quando o paciente recebe a confirmação definitiva da patologia, já o tumor rompeu o córtex, sendo que esta massa óssea pode envolver completamente o osso.³¹⁻³³

À data do diagnóstico, e embora o OS seja encarado como uma doença sistémica, a maioria dos doentes apresentam micrometástases, havendo cerca de 15 a 20% que apresentam já doença metastática. A metástase é predominantemente hematogénica com a produção de depósitos pulmonares em cerca de 85% dos casos. A metástase para outros ossos pode ser precoce e disseminada, o que sugere origem multifocal do sarcoma ou atrasada e localizada, o que leva a crer que surgiu um novo tumor.^{2,3,9,10,18,33}

2.1.3. Prognóstico

O factor prognóstico mais importante é o grau de necrose conseguido após a quimioterapia neoadjuvante, sendo que um grau de necrose $\geq 95\%$ no tumor primário, representa um bom prognóstico^{2,33-34}. Mais recentemente, alguns marcadores moleculares foram sugeridos como marcadores de prognóstico, incluindo: a perda da heterozigosidade (LOH) da p53 e da pRB, anormalidades citogenéticas, ausência dos mecanismos de manutenção dos telómeros, a sobreexpressão do HER-2, da p-glicoproteína, e do receptor da lipoproteína de

baixa densidade relacionado com a proteína 5 (LRP5)²³⁻²⁶. No entanto, nenhum destes factores mostrou ser mais importante como factor prognóstico do que a resposta histológica à quimioterapia e, em alguns grupos, os resultados não são conclusivos³⁵⁻⁴².

2.1.4. Quimioterapia

Antes da introdução da quimioterapia como tratamento de base, os pacientes com OS tinham um mau prognóstico, onde a sobrevivência a 5 anos não ultrapassava os 20%. Após os trabalhos pioneiros dos anos 70, quando se começou a usar uma abordagem de quimioterapia multi-droga pré-operatória, a sobrevivência aumentou imenso. Com a terapia multidisciplinar, a sobrevivência a longo termo dos pacientes com OS central está actualmente estimada em cerca de 50 a 70%.⁴³⁻⁴⁶

Os agentes quimioterápicos primários com eficácia estabelecida e comprovada no tratamento do OS são a doxorrubicina (A), a cisplatina (P), ifosfamida (I) e o metotrexato (MTX)⁴⁷. Continua no entanto por resolver, o maior problema: o facto dos doentes com doença axial, bem como os doentes com doença recorrente ou metastática continuarem a ter mau prognóstico. Um dado muito importante que é preciso reter, é o de que cerca de 20% dos doentes apresentam metástases na altura do diagnóstico do OS, sendo a prática comum o recurso à quimioterapia agressiva pré-operatória (quimioterapia neo-adjuvante), seguida de cirurgia ao tumor primário e às metástases em simultâneo, e por último quimioterapia pós-operatória (quimioterapia adjuvante).^{11,48,49}

Cerca de 30 a 40% dos pacientes com OS localizado acabam por desenvolver metástases locais ou distantes. Cerca de 90% destas são metástases pulmonares as quais ocorrem habitualmente num intervalo de 2 a 3 anos após diagnóstico do OS. Recaída depois de 5 anos após o início dos tratamentos é incomum, embora aconteça em cerca de 1 a 2% dos pacientes com OS. A sobrevivência global a 5 anos sem incidências para OS recorrente é de 23-29% (com metástases pulmonares apenas: 28-33%).¹¹

A previsão é ainda consideravelmente mais pobre para doentes que apresentem metástases ósseas sincronizadas, sejam no tecido ósseo primário seja transarticular. A terapia multimodal agressiva comporta a promessa de alcançar a sobrevivência prolongada, em

especial nos doentes onde as metástases ocorrem no mesmo osso onde foi diagnosticada a lesão primária e naqueles doentes que respondem à quimioterapia.^{11,50-52}

A tabela 3 resume alguns dos principais estudos efectuados até à data dos tratamentos no osteossarcoma das extremidades de alto grau.

Tabela 3: Principais estudos efectuados sobre a quimioterapia no OS. BR: bons respondedores à quimioterapia pré-operatória; PR: maus respondedores à quimioterapia pré-operatória; pré-op.: quimioterapia pré-operatória; pós-op: quimioterapia pós-operatória; A: Doxorrubicina ou Adriamicina; P: Cisplatina; M: Metotrexato em alta dose; I: Ifosfamida; E: Ectopósido; BCD: Bleomicina-Ciclofosfamida-Dactinomicina; VCR: Vincristina; MTP: Muramil tripeptídeo fosfatidiletanolamina (MTP-PE: mifamurtide); G-CSF: factor de crescimento estimulador de colónias de granulócitos; RCT: Estudo randomizado controlado.

Estudo	Quimioterapia
MSKCC T10 ⁵³ 1975-84	M (pré-op.) BR: M + A + BCD (pós-op.) PR: A + P + BCD (pós-op.)
SSG-II ⁵⁴ (multicêntrico) 1982-89	M (pré-op.) BR: M + A + BCD (pós-op.) PR: A + P + BCD (pós-op.)
EOI-I ⁴⁶ (multicêntrico) (RCT) 1983-86	A + P ± M (pré e pós-op)
COSS-86 ⁵⁵ (multicêntrico) 1986-88	Pacientes de baixo risco: M + A + P (pré e pós-op.) Pacientes de alto risco: M + A + P + I (pré e pós-op)
IOR/OS-2 ⁵⁶ 1986-89	M + A + P (pré-op.) BR: M + A + P (pós-op.) PR: M + A + P + I/E (pós-op.)
EOI-2 ⁴⁶ (multicêntrico) (RCT) 1986-91	A + P ou M + A + VCR (pré-op.) A + P ou M + A + VCR + BCD (pós-op.)
POG-8651 ⁵⁷ (multicêntrico) 1986-93	Nenhuma ou M + A + P (pré-op.) M + A + P + BCD (pós-op.)
SSG-VIII ⁵⁸ (multicêntrico) 1990-97	M + A + P (pré-op.) BR: M + A + P (pós-op.) PR: M + A + P + I/E (pós-op.)
IOR/OS-4 ⁵⁹	M + A + P I (pré e pós-op.)

1993-95	
COG ⁶⁰ (multicêntrico) (RCT)	Regime a)
1993-97	M + A + P (pré-op.)
	M + A + P vs M+ A + P + MTP (pós-op.)
	Regime b)
	M + A + I (pré-op.)
	M + A + P +I vs M + A + P + I + MTP (pós-op.)
EOI-3 ⁶¹ (multicêntrico) (RCT)	A + P vs A + P + G-CSF (pré e pós-op.)
1993-2002	
SFOP-OS94 ⁶² (multicêntrico) (RCT)	Regime a)
	M + I/E(pré-op.)
	BR: M + I/E (pós-op.)
	PR: A + P (pós-op.)
	Regime b)
	M + A (pré-op.)
	BR: M + A (pós-op.)
	PR: I/E (pós-op.)
ISG/SSG-I ⁶³ (multicêntrico)	M + A + P + I (alta dose) (pré e pós-op.)
1997-2000	
SSG-XIV ⁶⁴ (multicêntrico)	M + A + P (pré-op.)
2001-05	BR: M + A + P (pós-op.)
	PR: M + A + P + I (pós-op.)
EURAMOS- 1 ^{65,66} (multicêntrico) (RCT)	M + A + P (pré-op.)
2005-11	BR: M + A + P vs M + A + P + INF- α (pós-op.)
	PR: M + A + P vs M+ a + P + I/E (pós-op.)

A quimioterapia pré-operatória (quimioterapia neoadjuvante) é, em regra, administrada cerca de 8 a 10 semanas antes da cirurgia. Após a cirurgia, e após um breve (o mais curto possível) espaço de tempo, para permitir a cicatrização das feridas, a quimioterapia pós-

cirúrgica (quimioterapia adjuvante) continua por um período de cerca de 12 a 29 semanas.⁶⁸⁻⁷⁰

O tratamento pré-operatório proporciona uma boa oportunidade para se estudar os procedimentos da cirurgia preservadora do membro e procedimentos de reconstrução, para se analisarem os efeitos histológicos da quimioterapia pré-operatória no tumor primário – quanto maior a regressão histológica, melhor a hipótese de o tratamento ser bem sucedido – e, potencialmente, estudar alterações da quimioterapia pós-operatória, se necessário.^{11,48,70}

A quimioterapia para o OS está associada a importantes efeitos tóxicos secundários, quer de curta quer de longa duração. Efeitos tóxicos agudos, tais como alopecia, mucosite, mielossupressão, náuseas e vômitos são complicações comuns na maioria dos regimes quimioterápicos usados. A causa da maior parte das raras mortes devido aos efeitos tóxicos dos citostáticos dizem respeito a insuficiência cardíaca precoce ou tardia devido à toxicidade da doxorubicina (toxicidade cardíaca) e à sepsis secundária à neutropenia febril.⁷¹⁻⁷⁴

O regime MAP da quimioterapia (M – MTX em alta dose, A – Doxorubicina e P – Cisplatina) é um dos protocolos mais amplamente usado no combate ao OS, sendo que o MTX é um dos potenciais causadores de graves efeitos secundários.⁷⁵⁻⁷⁷

Neoplasias secundárias malignas (SMNs) têm sido descritas até cerca de 25 anos após a terapia para o OS, sendo que as de maior risco de aparecimento são as leucemias, síndrome mielodisplásica, cancro da mama, tumores do SNC e outros tumores quer ósseos (OSs secundários) e sarcomas de tecidos moles. A maior parte destes acontecimentos (mais de 85%) ocorrem depois de 10 anos do diagnóstico do tumor primário e cumulativamente, foram mais comuns nas mulheres sobreviventes, nos sobreviventes que apresentavam doença metastática à apresentação e naqueles sobreviventes de tipos histológicos menos comuns.^{72,78-81}

3. Metotrexato

O MTX é um potente inibidor da dihidrofoloreductase (DHFR), a qual converte o dihidrofolato no composto activo tetrahydrofolato. Simultaneamente, as formas poliglutamadas metabolizadas do MTX inibem outras enzimas importantes do metabolismo do folato, tal como a Timidilato Sintetase (TYMS), sendo então o efeito final a inibição da síntese de RNA e de DNA.⁸²

O MTX é um antifolato clássico e um dos agentes citostáticos antimetabolitos mais estudados e utilizados.⁸³⁻⁸⁵

Um antimetabolito é uma substância que se assemelha a um componente essencial das vias de funcionamento do nosso organismo, e por conseguinte, interfere com a fisiologia das reacções, envolvendo-o. Assim sendo, um antimetabolito é um análogo estrutural de uma molécula que ocorre na natureza, essencial para o bom funcionamento celular, e que, em virtude da sua semelhança com esta molécula, interfere com o metabolismo celular. O resultado final pode ser atingido de várias formas, mas sempre respeitando o normal funcionamento celular: pode levar à morte, à diferenciação ou à alteração de funções celulares. Claro está que se fosse possível identificar um único caminho ou via específica para o crescimento tumoral (ou de qualquer célula, bactéria ou vírus), então, modulando selectivamente essa via, poderia fornecer as informações que tantos nos esforçamos por obter e compreender.^{86,87}



Figura 1: Analogias nas estruturas moleculares do Ácido Fólico e Metotrexato (modificado de www.info-farmacia.com/_/rsrc/1301052345397/medico-farmaceuticos/informes-tecnicos/metotrexate-en-artritis-reumatoide)

Ao contrário de outros agentes citostáticos, o MTX pode ser administrado de forma relativamente segura numa gama muito ampla de dosagem, podendo variar entre

20mg/m²/semana na quimioterapia de manutenção da LLA e tratamento de patologias não oncológicas – inflamatórias e auto-imunes, como a artrite reumatóide ou a psoríase^{84,88-90}, ou, quando combinados com resgate com Leucovorina (LV), em doses de 1 a 33g/m²^{80,91}. Esta última, designada HDMTX, é habitualmente administrada por via IV, é um componente importante do tratamento de uma gama ampla de variedade de neoplasias, como o OS, cancro da mama e cancro da cabeça e pescoço^{92,93}. HDMTX pode ser administrada com segurança em pacientes com função renal normal, desde que se faça uma hidratação vigorosa prévia do paciente assim como a alcalinização, para aumentar a solubilidade do MTX na urina, seguida de resgate com LV para evitar a toxicidade associada à HDMTX, potencialmente letal.^{68,75-77,85,94}

Apesar de se tomarem as precauções apropriadas, a disfunção renal induzida pela HDMTX continua a ocorrer em cerca de 1,8% dos pacientes tratados com os protocolos habituais e com cuidados profissionais adequados. Além disso, a mortalidade entre estes pacientes continua a ser de cerca de 4,4%. A excreção renal atrasada do MTX é mais frequente nos adultos (> 20 – 40 anos) do que nos adolescentes e crianças.^{69,95,96}

Para a prevenção dos efeitos secundários ao uso da HDMTX, é necessário proceder a uma escolha adequada e cuidada dos pacientes, adequada hidratação e alcalinização urinária, atenção às interacções medicamentosas, drenagem dos terceiros compartimentos (quando presentes) e monitorização farmacodinâmica procedendo aos ajustes necessários das doses de LV a administrar, tornaram a terapia com HDMTX bem tolerada pelos doentes, de uma maneira geral. Assim:

- i) Avaliação da função renal: Dado que os rins são a principal via de excreção do MTX, a determinação da função renal é um pré-requisito para a HDMTX. Filtração glomerular, secreção tubular e reabsorção tubular, são todos eles importantes no metabolismo do MTX^{97,98}. Após a administração do MTX, não são expectáveis alterações significativas nos valores séricos da Creatinina⁹⁹. Uma concentração normal da creatinina e uma filtração glomerular de 60 ml/min são critérios razoáveis de uma boa função renal, que assegura adequadamente a clearance de HDMTX.^{98,100}
- ii) Manutenção de uma hidratação adequada: Uma hidratação agressiva é necessária associada à alcalinização urinária para prevenir a precipitação do metabolito do MTX (7-OH MTX) nos rins. Este metabolito é especialmente

produzido nas situações de HDMTX, porque nas situações com MTX em concentrações normais, este metabolito quase que não se forma.¹⁰¹

iii) Alcalinização do pH urinário: MTX e o seu metabolito 7-OH MTX aparecem com predominância na terapia com HDMTX, e são cerca de 20 e 12X mais solúveis se o pH aumentar de 5,0 para 7,0. A precipitação tubular ocorre para $\text{pH} < 5,7$, o que contribui para a falência renal e atraso na clearance do MTX. Alcalinização da urina conseguida por via do bicarbonato de sódio, resulta numa diminuição substancial de nefrotoxicidade quando comparada com pacientes sem alcalinização.^{102,103}

iv) Interações medicamentosas: A administração de HDMTX com AINEs deve ser muito em especial cuidada pelo potencial de inibição da clearance renal do MTX, o que poderá originar uma elevação das concentrações do MTX, elevações essas que poderão mesmo ser prolongadas, levando ao aparecimento de efeitos secundários adversos.¹⁰⁴

v) Drenagem dos terceiros compartimentos: A presença dos chamados terceiros compartimentos (como as ascites e derrames pleurais) constituem uma importante contraindicação para a administração de HDMTX. Foi demonstrado que a semi-vida do MTX aumentava muito na presença destes compartimentos. A exposição prolongada ao MTX (com a consequente toxicidade associada) reflecte a difusão retrógrada para o compartimento intravascular do MTX acumulado nos terceiros compartimentos, onde as altas concentrações de MTX se podem acumular. Drenagem dos terceiros compartimentos deve ser feita antes da administração de HDMTX.^{100,105}

vi) Monitorização das concentrações séricas do MTX: Esta monitorização deve ser sempre feita como uma parte muito importante da terapia com HDMTX, dado que permite identificar preventivamente pacientes com alto-risco de efeitos secundários para a HDMTX.^{106,107}

O conhecimento dos mecanismos pelos quais o MTX actua e é metabolizado são essenciais para podermos compreender a toxicidade associada ao MTX. O transporte transmembranar do folato e dos análogos de antifolatos (estrutura semelhante ao do folato), pode ser feito pelo menos por dois mecanismos diferentes, sendo estes mecanismos dependentes de energia, o que sugere um transporte activo do MTX e dos folatos reduzidos.^{108,109}

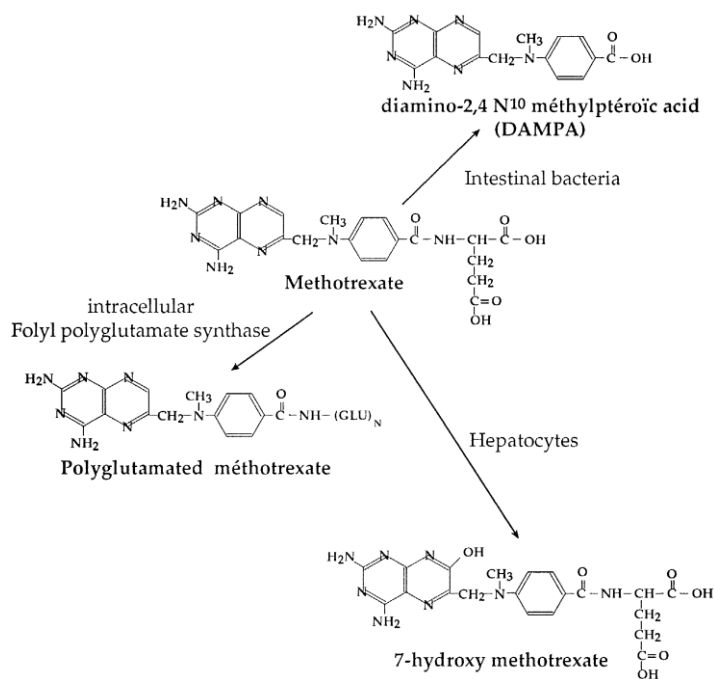


Figura 2: Metabolismo intracelular do MTX e formas bioquímicas resultantes (modificado de Genestier L et al. Mechanisms of action of methotrexate. Immunopharmacology. 2000; 47:247-57)

A primeira via envolve um transportador de folato reduzido (RFC) de baixa afinidade, o qual é capaz de transportar análogos de folatos reduzidos (como a leucovorina) e o MTX com eficiência semelhante. O transporte intracelular de MTX por esta via ocorre em associação a um gradiente aniônico, que actua como co-factor para este tipo de transporte. A segunda via de transporte implica uma proteína receptora de folatos associada à membrana, a FBP (*Folate Binding Protein*). O MTX tem uma afinidade baixa para esta proteína, sendo mesmo cerca de 10 a 30 vezes inferior à afinidade da mesma para folatos reduzidos. A expressão de cada uma destas vias, depende em larga medida, da concentração extracelular do folato. Em altas concentrações, o MTX usa preferencialmente a difusão passiva para entrar dentro da célula, bem como transportador de baixa afinidade.¹⁰⁹⁻¹¹¹

A metabolização intracelular do MTX ocorre de várias formas:

- i) O MTX sofre poliglutamação mediada pela Folil poliglutamato sintetase (FPGS), usando o ATP como fonte energética. Uma vez poliglutamadas, as formas do MTX (MTXPG) são retidas intracelularmente por longos períodos de tempo. Esta retenção leva ao aumento da sua semi-vida e tempo de actuação, bem assim como uma das grandes causas de citotoxicidade. O MTX e as suas formas poliglutamadas (MTXPG) bloqueiam a síntese *de novo* de nucleótidos,

por via da redução intracelular dos cofactores necessários para o funcionamento da enzima dihidrofolato reductase (DHFR), levando à sua inibição. Poliglutamatos e dihidrofolato de MTX acumulam-se intracelularmente como resultados da inibição da DHFR, o que leva igualmente à inibição da Timidilato Sintetase (TS) e outras enzimas envolvidas na via de biossíntese das purinas.^{112,113}

- ii) Outra das vias de metabolização do MTX passa pela formação do 7-OH-MTX, hidroxilação feita pela adição de um grupo –OH na posição 7 do anel pterino pela aldeído oxidase hepática. Esta hidroxilação hepática do MTX e de outros anti-folatos constitui a maior forma de destoxificação, uma vez que são menos eficazes na inibição da DHFR e tornam-se alvos apetecíveis para os transportadores de folatos reduzidos e MTX.^{108,109}
- iii) Por último, *in vivo*, o MTX é muito rapidamente metabolizado a DAMPA (Diamino-2,4-N¹⁰-Ácido metilpteróico), pelas carboxipeptidases da flora intestinal bacteriana. Tal como para o 7-OH-MTX, a forma hidroxilada derivada do DAMPA, a 7-OH-DAMPA é muito menos eficiente como inibidor da DHFR, o que leva a crer que a sua formação tenha a ver com a destoxificação do organismo.^{109,114}

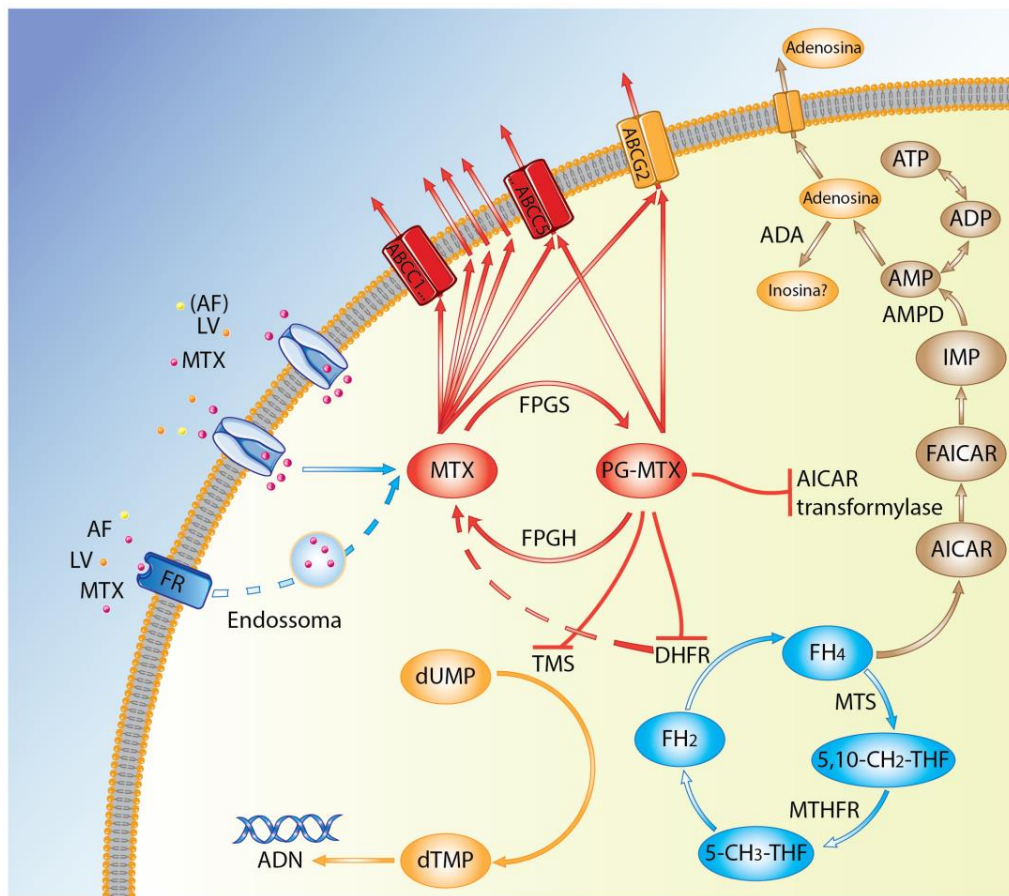


Figura 3: Efeitos celulares do MTX: transporte, formação dos poliglutamatos e efeitos intracelulares (modificado de Davila L & Baganathan P. Pharmacogenetics: implications for therapy in rheumatic diseases. Nat. Rev. Rheumatol. 2011. Doi: 10.1038/nrrheum.2011.117). Abreviaturas: TMS: timidilato sintetase; DHFR: dihidrofolatoreductase; MTXPG: poliglutamatos de MTX; AICAR: carboxiamida aminoimidazol adenosina ribonucleótido; dUMP: desoxi uridina monofosfato; dTMP: desoxi timidina monofosfato; GGH: gamaglutamil hidroxilase; FPGS: folipoliglutamato sintetase; MTHFR: metileno tetra hidrofolato reductase

4. Reflexos Laboratoriais

Sempre que há lesões suspeitas de poderem conduzir ao diagnóstico de osteossarcoma, para além do estudo da história clínica (incluindo dor, antecedentes médicos e clínicos e sintomatologia), da examinação detalhada (incluindo avaliação local, regional e sistémica), há uma série de testes laboratoriais que podem e devem ser executados, onde se contam:^{3,5,10}

- ✓ Radiografias de todo o membro, colocando em grande plano o osso afectado, assim como toda a estrutura da articulação acima e abaixo da região afectada;
- ✓ Radiografias do tórax para avaliação da presença/ausência de focos metastáticos;
- ✓ Toda uma série de exames laboratoriais sanguíneos, incluindo hemograma completo, velocidade de sedimentação eritrocitária-VS (aumentada nas infecções e mielomas múltiplos), Proteína C Reactiva-PCR, electrólitos (Na, K e Cl), perfil ósseo (Cálcio-Ca, FAlc, LDH, cujos níveis estão aumentados em tumores ósseos), alguns marcadores tumorais séricos (Antigénio Prostático Específico-PSA e Antigénio Carcinoembrionário-CEA) e electroforese de proteínas (alterações nos plasmacitomas e mielomas múltiplos).

Cerca de metade dos jovens adultos sobreviventes ao cancro, teve pelo menos uma reacção adversa na sua vida posterior decorrente do tratamento a que foi submetido. A toxicidade precoce poderá afectar a função renal e/ou hepática, assim como poderá reflectir-se nos valores hematológicos. Dado o aumento de sobrevida, os efeitos secundários mais tardios poderão fazer-se sentir, contando entre estes a cardiotoxicidade, tumores secundários, esterilidade, insuficiência renal crónica e toxicidade neurológica (nomeadamente ototoxicidade).^{3,10,115-117}

A Falc foi considerada por diversos autores como um importante factor prognóstico, dado que foi mostrada a sua produção por células do osteossarcoma, estando muitas vezes aumentada¹¹⁸⁻¹²⁰. Avaliada antes do início da quimioterapia neoadjuvante e na ausência de evidência de metástases, estes valores servem como prognóstico para a sobrevivência, mas não como predictores da resposta à quimioterapia. Depois de efectuada o tratamento, os valores da Falc tendem a normalizar na maioria dos pacientes, mas não é ainda muito claro qual o seu significado no que à sobrevivência ou à resposta da quimioterapia dizem

respeito. Valores de cerca de 2 vezes ou mais os valores do limite superior da normalidade, serão pior prognóstico de sobrevivência. Se ainda maiores (3x ou mais o limite superior da normalidade), o prognóstico de pouca da resposta à quimioterapia é de cerca de 80%. O nível da Falc após o tratamento mas antes da cirurgia parece ser de ainda mais importância. O valor predictivo de sobrevivência sofre alterações graduais em decrescendo, consoante este valor é normal, moderadamente elevado ou muito elevado¹²¹⁻¹²³. Assim sendo, este valor, que até é de fácil e económica determinação, deverá ser usado sistematicamente de uma forma prospective.¹²³

Valores laboratoriais de LDH podem também ser usados como factores de prognóstico, tal como a Falc, onde semelhantemente valores aumentados estão correlacionados com pior prognóstico e com tumores mais activos biologicamente.¹²⁴⁻¹²⁶

A VS está com frequência elevada e subsequentes aumentos poderão levar à suspeita de recidiva, devendo ser tomadas medidas de avaliação subsequentes.^{125,126}

A PCR, como marcador de infecção e inflamação que é, deverá estar aumentada nos primeiros tempos, mas deverá normalizar após o final dos tratamentos. Aumentos subsequentes deverão fazer suspeitar de infecção, devendo igualmente ser tomadas medidas de avaliação.^{125,126}

No que aos níveis do MTX dizem respeito, há uma associação entre os valores séricos do pico e prognóstico. Embora haja discrepâncias nalguns estudos, estas podem ser atribuídas à dose inadequada, à hiperhidratação, e à dificuldade em ajustar as doses individualmente de acordo com os valores obtidos séricos de pico, o que mostra a importância suprema de obtenção de valores adequados de farmacocinética do MTX para uma quimioterapia adequada e eficaz, em especial logo no primeiro pico das 6H após o início da infusão.¹²⁷⁻¹³⁰

A nível hepático, o MTX tem alguns efeitos perniciosos como esteatose, hipertrofia celular e fibrose hepática, podendo também levar ao aumento da concentração sérica das transaminases (ALT e AST) até cerca de 2x do limite superior dos valores normais, sendo que estes aumentos ocorrem em cerca de 60 a 80% dos pacientes tratados com HDMTX e, regra geral, regressam aos valores normais cerca de 2 a 3 semanas após o final dos tratamentos. Quanto maior a dose, maior a toxicidade sobre as enzimas hepáticas.¹³¹⁻¹³³

A toxicidade medular provocada pelo MTX é devida à inibição na síntese de ADN provocada pela depleção do folato, nas células em proliferação, mas apenas na fase S do ciclo celular, o que explica porque a toxicidade medular está associada à excreção renal

retardada do MTX. A administração de Leucovorina (LV) na dose e alturas certas, assim como a suplementação com folatos reduzidos, evita o desenvolvimento da mielossupressão severa.¹³⁴⁻¹³⁶

5. Outras abordagens ao OS para além das estratégias terapêuticas correntes

Actualmente, para além das abordagens terapêuticas descritas anteriormente e para além de novos agentes derivados dos até aqui descritos, em especial no que a novas formas de antifolatos dizem respeito, existem uma variedade de agentes com potencial clínico para o OS de alto grau, com preponderância nos novos sistemas de distribuição de drogas, imunoterapia, alvo molecular, abordagens das vias de sinalização e manipulação do ambiente tumoral. Estes trabalhos de investigação permitiram identificar alvos possíveis para novas abordagens, tendo levado à disponibilidade de uma grande panóplia de drogas, sendo que umas têm como objectivo a inibição do tumor propriamente dito e outras o evitar a resistência às drogas^{11,71,77,137}. Assim:

1. Superar a resistência à quimioterapia:
 - a. Inibição da síntese de DNA e do crescimento celular;
 - b. Indução da apoptose e da paragem do ciclo celular;
 - c. Novas formas de antifolatos;
 - d. Inibição do efluxo da droga.
2. Inibição dos receptores celulares e de transdução de sinal:
 - a. Via do IGF/IGF-1R;
 - b. Via do mTOR;
 - c. Via do Src;
 - d. Sobreexpressão do HER-2.
3. Alteração do microambiente tumoral por via da inibição da destruição do tecido ósseo mediada pelos osteoclastos:
 - a. Bifosfonatos;
 - b. Inibidores do RANKL (inibidores da angiogénese);
 - c. Inibidores do VEGF.

6. Discussão

Na abordagem terapêutica actual, um dos enormes factores de sucesso conta com uma primordial colaboração laboratorial, porquanto o sucesso/insucesso do tratamento pré-operatório está dependente da farmacocinética do MTX, bem como evitar efeitos adversos desta administração. Assim:

- ✓ Farmacocinética do MTX: por meio das medições das concentrações séricas do MTX desde o início da infusão até 72h após o término;⁸⁰⁻⁸²
- ✓ Evitar os efeitos secundários de toxicidade:
 - renais: por meio da avaliação dos electrólitos, BUN e Creatinina;^{78,85-86,88}
 - hepáticos: por meio da medição das concentrações séricas das transaminases AST e ALT;^{83,90}
 - hematológicos: por meio das contagens de eritrócitos, leucócitos e plaquetas.⁶⁷⁻⁶⁹

O laboratório também contribui com os valores séricos de FAlc e LDH – quanto mais elevados, pior prognóstico, estando o primeiro relacionado com o tamanho e o segundo com a biologia do tumor. Valores elevados de VS e de PCR no final dos tratamentos são também indicadores de mau prognóstico.¹¹⁸⁻¹²⁴

Pela análise da literatura disponível, esta mostra-nos que se logrou chegar a um patamar de estabilidade na abordagem curativa do OS de alto grau. A preservação dos membros teve um enorme sucesso desde os anos 70 até aos nossos dias. No entanto, após um enorme aumento na sobrevivência sem recorrência a 5 anos com a introdução da poliquimioterapia e da intensidade da dose nos anos 80, esta não conseguiu ainda ultrapassar os 65 – 75% na actualidade. Após cerca de 3 décadas sem melhorias, dever-se-á reavaliar a metodologia de abordagem terapêutica e pensar de modo diferente.^{10,11,17,18}

Devemos com certeza usar os novos conhecimentos e utilizações trazidos pelas novas tecnologias. Por um lado, se conseguirmos diagnosticar mais cedo a doença, poderemos atacá-la mais cedo, o que proporcionará melhoria da qualidade de vida e, por outro lado, se for suficientemente cedo, até talvez possamos evitar que a doença progrida (não nos podemos esquecer que cerca de 20% dos que apresentam metástases à data do diagnóstico e mesmo naqueles em que as metástases não são clinicamente detectáveis, muitos

apresentam micrometástases que posteriormente irão evoluir e causar mau prognóstico).^{5,6,21,29}

A abordagem da etiologia molecular, constitui também uma grande fonte de informação para a patogénese tão incompreendida do OS, mas cuja utilização diagnóstica e prognóstica é ainda limitada. Existem diversas vias a explorar, assim como compostos, que por sua vez irão originar novas abordagens e alvos terapêuticos.^{14,24-27}

A citometria de fluxo, metodologia que tem tido um enorme incremento de utilização e diagnóstico, embora seja muito usada nas neoplasias líquidas, também tem uso nas sólidas, pois uma das grandes áreas de investigação é a pesquisa da Célula Estaminal Cancerígena¹³⁸⁻¹⁴⁰. A metodologia de FISH – hibridização fluorescente *in situ* – que também está agora a começar a ser usada em tumores sólidos, poderá ser outra hipótese de contribuir positivamente para a pesquisa da DRM – Doença Residual Mínima. Se por um lado esta metodologia pode identificar anomalias genéticas que estão presentes nos OS, por outro lado poderá vir a prever a recorrência.^{138,140,141}

Dado que neste tipo de neoplasias, o diagnóstico é feito por imagiologia, biópsia e valores laboratoriais, para além da observação clínica e dados inerentes ao próprio doente, como a idade e o sexo, com o avanço da informatização e das tecnologias de informação poderá ser criado um algoritmo que permita introduzir todos estes dados e criar uma base de dados que permita diagnosticar ainda mais cedo a neoplasia. Se pudermos evitar uma atitude de diagnóstico/tratamento invasiva no doente, e não nos devemos esquecer de modo algum da incidência desta patologia nas crianças e jovens adultos, esta seria sem dúvida uma enorme contribuição para a melhoria da qualidade de vida destes doentes. Já existem alguns programas que permitem calcular a hipótese de diagnóstico de neoplasias, pela inclusão de alguns dados obtidos por exames de diagnóstico prévios, calculando estes programas a hipótese do(a) doente vir a sofrer da neoplasia – a radiómica.¹⁴²⁻¹⁴⁶

7. Conclusão

Embora nos últimos anos muito se tenha avançado nos conhecimentos sobre a patogénese molecular do OS, ainda desconhecemos muito sobre estes mecanismos, como a tumorigénese, mediadores específicos da progressão da doença, mecanismos de quimioresistência e desenvolvimento de metástases.

Por isso mesmo, a abordagem actual de quimioterapia neoadjuvante seguida de cirurgia e quimioterapia adjuvante, com ou sem associação à radioterapia, mantém-se como a estratégia terapêutica actual, embora não consiga lograr obter mais de 60-70% de taxa de sucesso.

De entre as drogas citostáticas mais usadas na quimioterapia neoadjuvante, encontramos o MTX, que para que surta efeito cabalmente, tem que ser administrado em alta-dose (HDMTX), o que poderá trazer consequências adversas aos pacientes submetidos a este tipo de tratamento. Para que tal não aconteça, há uma série de procedimentos iniciais obrigatórios, como a hiperhidratação, a alcalinização do paciente, e a verificação laboratorial da normalidade das funções renal e hematológica. Aquando da monitorização da terapêutica, outros doseamentos laboratoriais são efectuados, como a farmacocinética do MTX, função hepática, para além das já citadas renal e hematológica. Destes resultados dependem em muito o sucesso do tratamento, bem como a qualidade de vida do paciente.

A avaliação laboratorial é um dado adquirido, mas é imensas vezes menosprezada em função dos diversos estudos moleculares de diversa índole. Embora estes sejam sem dúvida importantes, pois poderão permitir estabelecer novos alvos terapêuticos, novas vias de actuação para os fármacos já existentes, ou descoberta de novos agentes terapêuticos mais eficazes e com menor hipótese de efeitos adversos, por enquanto, nesta estratégia actualmente praticada, ela é balizada por diversos estudos laboratoriais que não só monitorizam a terapêutica, como poderão estabelecer prognósticos e evitar uma panóplia de efeitos secundários que irão diminuir substancialmente a qualidade de vida do paciente.

8. Referências

1. Jemal A, et al. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2005;55(1):10–30.
2. Hartmann JT, Kopp HG. Bone sarcomas. Update on cancer therapeutics. 2006;1:65–74.
3. Sumathi VP, Jeys L, Darbyshire A. Primary malignant tumours of the bone. *Surgery*. 2011;30(2):72-79.
4. Herzog CE. Overview of sarcomas in the adolescent and young adult population. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2005;27(4):215–8.
5. Unni KK, Inwards CY, eds. *Dahlin's Bone Tumors: General aspects and data on 10.165 cases*. 6th ed. Philadelphia, PA 19013 USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
6. Huvos AG. *Bone tumors: Diagnosis, Treatment and Prognosis*. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1991.
7. Wolf RE, Enneking WF. The staging and surgery of musculoskeletal neoplasms. *Orthopedic Clinics of North America*. 1996;27:473-481.
8. Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al. *American Joint Committee on Cancer: Cancer staging manual*. 6th ed. New York, NY: Springer Verlag; 2002.
9. Kleihues P, Sobin L, Fletcher C, et al. *WHO Classifications of Tumours: Pathology and Genetics of Tumors of Soft Tissue and Bone*. Lyon, France: IARC Press; 2002.
10. Longhi A, Errani C, De Paolis M, Mercuri M, Bacci G. Primary bone osteosarcoma in the pediatric age: State of the art. *Cancer Treatment Reviews*. 2006;32:423– 436.
11. Luetke A, Meyers PA, Lewis I, Juergens H. Osteosarcoma treatment – Where do we stand? A state of the art review. *Cancer Treatment Reviews*. 2014;40:523–532.
12. Beckingsale TB, Gerrand CH. Osteosarcoma. *Orthopaedics and Trauma*. 2010;24(5):321-331.
13. Cleton-Jansen AM, Buerger H, Hogendoorn P. Central high-grade osteosarcoma of bone: Diagnostic and genetic considerations. *Current Diagnostic Pathology*. 2005;11:390–399.

14. Fletcher CD, Unni KK, Mertens F. Pathology and genetics of tumours of soft tissue and bone. Lyon: IARC Press;2002.
15. Huvos AG. Malignant surface lesions of bone. *Curr Diagn Pathol*. 2001;7:247–50.
16. Campanacci M. Bone tumors. 2nd ed. Lippincott-Verlag; 1999.
17. Majó J, Cubedo R, Pardo N. Treatment of Osteosarcoma. A review. *Rev esp cir ortop traumatol*. 2010;54(5):329-336.
18. Ta HT, Dass CR, Choong PFM, Dunstan DE. Osteosarcoma treatment: state of the art. *Cancer Metastasis Rev*. 2009;28:247-63.
19. NICE. Guidance on improving cancer services: improving outcomes for people with sarcoma. The manual. London: National Institute for Health and Clinical Excellence; 2006.
20. Ritter J, Bielack SS. Osteosarcoma. *Annals of Oncology*. 2010; 21(Suppl 7):vii320-vii325.
21. Longhi A, Errani C, De Paolis M, Mercuri M, Bacci G. Primary bone osteosarcoma in the pediatric age: state of the art. *Cancer Treatment Reviews*. 2006;32:423–436.
22. Eden TO, et al. Cancer and the adolescent. Malden: Blackwell; 2005.
23. Marina N, Gebhardt M, Teot L, Gorlick R. Biology and therapeutic advances for pediatric osteosarcoma. *The Oncologist*. 2004;9:422–441.
24. Clark JC, Dass CR, Choong, PF. A review of clinical and molecular prognostic factors in osteosarcoma. *Journal of Cancer Research Clinical Oncology*. 2007;134:281– 297.
25. Kosei Ando K, Heymann MF, Stresing V, Mori K, Rédini F, Heymann D. Current Therapeutic Strategies and Novel Approaches in Osteosarcoma. *Cancers*. 2013;5:591-616.
26. Heymann D, Rédini, F. Bone sarcomas: Pathogenesis and new therapeutic approaches. *IBMS BoneKEy*. 2011;8:402–414.
27. Gill J, Ahluwalia MK, Geller D, Gorlick R. New targets and approaches in osteosarcoma. *Pharmacology & Therapeutics*. 2013;137:89–99.
28. Mirabello L, Troisi RJ, Savage SA. Osteosarcoma incidence and survival rates from 1973 to 2004: data from the Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. *Cancer*. 2009;115:1531–1543.

29. Ottaviani G, Jaffe N. The epidemiology of osteosarcoma. *Cancer Treat Res.* 2009;152:3–13.
30. Herzog CE. Overview of sarcomas in the adolescent and young adult population. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2005;27(4):215–223.
31. Casas-Ganem J, Healey JH. Advances that are changing the diagnosis and treatment of malignant bone tumors. *Curr Opin Rheumatol.* 2005;17(1):79–85.
32. Pizzo PA, Poplack DG, et al. Principles and practice of pediatric oncology. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven; 1997.
33. Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, Bast Jr RC, Gansler TS, Holland JF, Frei III E. Cancer medicine. 6th ed. Hamilton (Canada): BC Decker Inc; 2003.
34. Marina N, et al. Biology and therapeutic advances for pediatric osteosarcoma. *Oncologist.* 2004;9(4):422–41.
35. Bielack SS, et al. Prognostic factors in high-grade osteosarcoma of the extremities or trunk: an analysis of 1,702 patients treated on neoadjuvant cooperative osteosarcoma study group protocols. *J Clin Oncol.* 2002;20(3):776–90.
36. Goto A, et al. Association of loss of heterozygosity at the p53 locus with chemoresistance in osteosarcomas. *Jpn J Cancer Res.* 1998;89(5):539–47.
37. Serra M, et al. Relationship between P-glycoprotein expression and p53 status in high-grade osteosarcoma. *Int J Oncol.* 1999;14(2):301–7.
38. Feugeas O, et al. Loss of heterozygosity of the RB gene is a poor prognostic factor in patients with osteosarcoma. *J Clin Oncol.* 1996;14(2):467–72.
39. Ozaki T, et al. Genetic imbalances revealed by comparative genomic hybridization in osteosarcomas. *Int J Cancer.* 2002;102(4):355–65.
40. Ulaner GA, et al. Absence of a telomere maintenance mechanism as a favorable prognostic factor in patients with osteosarcoma. *Cancer Res.* 2003;63:1759–63.
41. Onda M, et al. ErbB-2 expression is correlated with poor prognosis for patients with osteosarcoma. *Cancer.* 1996;77(1):71–8.
42. Pakos EE, Ioannidis JP. The association of P-glycoprotein with response to chemotherapy and clinical outcome in patients with osteosarcoma. A meta-analysis. *Cancer.* 2003;98(3):581–9.

43. Kilpatrick SE, et al. Clinicopathologic analysis of HER-2/neu immunoexpression among various histologic subtypes and grades of osteosarcoma. *Mod Pathol*. 2001;14(12):1277–83.
44. Friedman MA, Carter SK. The therapy of osteogenic sarcoma: current status and thoughts for the future. *J Surg Oncol*. 1972;4: 482–510.
45. Rosen G, Marcove RC, Caparros B, et al. Primary osteogenic sarcoma: the rationale for preoperative chemotherapy and delayed surgery. *Cancer*. 1979;43: 2163–2177.
46. Meyers PA, Gorlick R, Heller G, et al. Intensification of preoperative chemotherapy for osteogenic sarcoma: results of the Memorial Sloan-Kettering (T12) protocol. *J Clin Oncol*. 1998;16: 2452–2458.
47. Souhami RL, Craft AW, Van der Eijken JW, et al. Randomised trial of two regimens of chemotherapy in operable osteosarcoma: a study of the European Osteosarcoma Intergroup. *Lancet*. 1997; 350: 911–917.
48. Sun L; Li Y; Li H; Zhang J; Li B; and Ye Z: Analysis of Chemotherapy Dosage and Dosage Intensity and Survival Outcomes of High-Grade Osteosarcoma Patients Younger Than 40 Years. *Clin Ther*. 2014; (in press)
49. Longhi A, Setola E, Versari M, Bacci G. The role of chemotherapy in the treatment of bone and soft tissue sarcomas. *Current Orthopaedics*. 2005; 19: 119–126.
50. Bacci G, Briccoli A, Rocca M, et al. Neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma of the extremities with metastases at presentation: recent experience at the Rizzoli Institute in 57 patients treated with cisplatin, doxorubicin, and a high dose of methotrexate and ifosfamide. *Ann Oncol*. 2003; 14: 1126–34.
51. Kempf-Bielack B, Bielack SS, Jürgens H, et al. Osteosarcoma relapse after combined modality therapy: an analysis of unselected patients in the Cooperative Osteosarcoma Study Group (COSS). *J Clin Oncol*. 2005; 23: 559–68.
52. Bacci G, Rocca M, Salone M, et al. High grade osteosarcoma of the extremities with lung metastases at presentation: treatment with neoadjuvant chemotherapy and simultaneous resection of primary and metastatic lesions. *J Surg Oncol*. 2008; 98: 415–20.

53. Hauben EI, Bielack S, Grimer R, et al. Clinico-histologic parameters of osteosarcoma patients with late relapse. *Eur J Cancer*. 2006; 42: 460–6.
54. Meyers PA, Heller G, Healey J, et al. Chemotherapy for nonmetastatic osteogenic sarcoma: the Memorial Sloan-Kettering experience. *J Clin Oncol*. 1992; 10:5–15.
55. Smeland S, Muller C, Alvegard TA, et al. SSGVIII study: prognostic factors for outcome and role of replacement salvage chemotherapy for poor histologic responders. *Eur J Cancer*. 2003; 39: 488–94.
56. Fuchs N, Bielack SS, Epler D, et al. Long-term results of the co-operative German–Austrian–Swiss osteosarcoma study group’s protocol COSS-86 of intensive multidrug chemotherapy and surgery for osteosarcoma of the limbs. *Ann Oncol*. 1998; 9: 893–9.
57. Bacci G, Briccoli A, Ferrari S, et al. Neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma of the extremity: long-term results of the Rizzoli’s 4th protocol. *Eur J Cancer*. 2001; 37: 2030–9.
58. Goorin AM, Schwartzentruber DJ, Devidas M, et al. Pediatric Oncology Group. Presurgical chemotherapy compared with immediate surgery and adjuvant chemotherapy for nonmetastatic osteosarcoma: pediatric oncology group study POG-8651. *J Clin Oncol*. 2003; 21: 1574–80.
59. Bruland ØS, Bauer H, Alvegaard T, Smeland S. Treatment of osteosarcoma. The scandinavian sarcoma group experience. *Cancer Treat Res*. 2009; 152: 309–18.
60. Picci P, Mercuri M, Ferrari S, et al. Survival in high-grade osteosarcoma: improvement over 21 years at a single institution. *Ann Oncol*. 2010; 21: 1366–73.
61. Bielack SS, Marina N, Ferrari S, et al. Osteosarcoma: the same old drugs or more? *J Clin Oncol*. 2008; 26: 3102–3 [author reply 3104–5].
62. Lewis IJ, Nooij MA, Whelan J, et al. MRC BO06 and EORTC 80931 collaborators; European osteosarcoma intergroup. Improvement in histologic response but not survival in osteosarcoma patients treated with intensified chemotherapy: a randomized phase III trial of the European osteosarcoma intergroup. *J Natl Cancer Inst*. 2007; 99: 112–28.
63. Le Deley MC, Guinebretière JM, Gentet JC, et al. SFOP OS94: a randomised trial comparing preoperative high-dose methotrexate plus doxorubicin to highdose

- methotrexate plus etoposide and ifosfamide in osteosarcoma patients. *Eur J Cancer*. 2007; 43: 752–61.
64. Ferrari S, Smeland S, Mercuri M, et al. Italian and scandinavian sarcoma groups. Neoadjuvant chemotherapy with high-dose ifosfamide, high-dose methotrexate, cisplatin, and doxorubicin for patients with localized osteosarcoma of the extremity: a joint study by the Italian and scandinavian sarcoma groups. *J Clin Oncol*. 2005; 23: 8845–52.
 65. Smeland S, Bruland OS, Hjorth L, et al. Results of the scandinavian sarcoma group XIV protocol for classical osteosarcoma: 63 patients with a minimum follow-up of 4 years. *Acta Orthop*. 2011; 82: 211–6.
 66. Whelan JS, Jinks RC, McTiernan A, et al. Survival from high-grade localised extremity osteosarcoma: combined results and prognostic factors from three European Osteosarcoma Ontergroup randomised controlled trials. *Ann Oncol*. 2012; 23: 1607–16.
 67. EURAMOS. www.ctu.mrc.ac.uk/euramos. Accessed 10 March 2012. Ref type: electronic citation
 68. Geller DS, Gorlick R. Osteosarcoma: a review of diagnosis, management, and treatment strategies. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2010; 8: 705–18.
 69. Carrle D, Bielack SS. Current strategies of chemotherapy in osteosarcoma. *Int Orthop*. 2006; 30: 445–51.
 70. Whelan J, Seddon B, Perisoglou M. Management of osteosarcoma. *Curr Treat Options Oncol*. 2006; 7: 444–55.
 71. Raymond AK, Jaffe N. Osteosarcoma multidisciplinary approach to the management from the pathologist's perspective. *Cancer Treat Res*. 2009; 152: 63–84.
 72. Hattinger CM, Pasello M, Ferrari S, Picci P, Serra M. Emerging drugs for highgrade osteosarcoma. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2010; 15: 615–34.
 73. Janeway KA, Grier HE. Sequelae of osteosarcoma medical therapy: a review of rare acute toxicities and late effects. *Lancet Oncol*. 2010; 11: 670–8.
 74. Bielack S, Jürgens H, Jundt G, et al. Osteosarcoma: the COSS experience. *Cancer Treat Res*. 2009; 152: 289–308.

75. Muñoz A, Alfaro J, Pardo N, et al. Long-term results of the Spanish protocol SO-95 for the treatment of non-metastatic high-grade osteosarcoma of the extremities in children. *Clin Transl Oncol*. 2009; 11: 387–92.
76. Bielack S, Carrle D, Casali PG, ESMO guidelines working group. Osteosarcoma: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2009; 20(Suppl. 4): 137–9.
77. Ta HT, Dass CR, Choong PF, Dunstan DE. Osteosarcoma treatment: state of the art. *Cancer Metastasis Rev*. 2009; 28: 247–63.
78. Chou AJ, Geller DS, Gorlick R. Therapy for osteosarcoma: where do we go from here? *Paediatr Drugs*. 2008; 10: 315–27.
79. Nagarajan R, Kamruzzaman A, Ness KK, et al. Twenty years of follow-up of survivors of childhood osteosarcoma: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Cancer*. 2011; 117: 625–34.
80. Bacci G, Ferrari C, Longhi A, et al. Second malignant neoplasm in patients with osteosarcoma of the extremities treated with adjuvant and neoadjuvant chemotherapy. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2006; 28: 774–80.
81. Hauben EI, Arends J, Vandenbroucke JP, van Asperen CJ, Van Marck E, Hogendoorn PC. Multiple primary malignancies in osteosarcoma patients. Incidence and predictive value of osteosarcoma subtype for cancer syndromes related with osteosarcoma. *Eur J Hum Genet*. 2003; 11: 611–8.
82. Aung L, Gorlick RG, Shi W, et al. Second malignant neoplasms in long-term survivors of osteosarcoma: Memorial Sloan-Kettering cancer center experience. *Cancer*. 2002; 95: 1728–34.
83. Robien K, Boynton A, Ulrich CM. Pharmacogenetics of folate-related drug targets in cancer treatment. *Pharmacogenomics*. 2005; 6: 673–89.
84. Allegra CJ. Antifolates. In: Chabner BA, Collins JM, eds. *Cancer Chemotherapy*. Philadelphia: Lippincott Company, 1990:110–153.
85. Jolivet J, Cowan KH, Curt GA et al. The pharmacology and clinical use of methotrexate. *N Engl J Med*. 1983; 309: 1094–1104.
86. Widemann BC, Peter C, Adamson PC. Understanding and Managing Methotrexate Nephrotoxicity. *The Oncologist*. 2006; 11: 694–703.

87. Frost, P. and Kamen, B.A. The bullseye of cancer therapy: a moving target. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2003; 3: 335–337
88. Cole PD, Zebala JA, Kamen BA. Antimetabolites: A new perspective. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies.* 2005 (2); 4: 337-342.
89. Albertioni F, Flato B, Seideman P et al. Methotrexate in juvenile rheumatoid arthritis. Evidence of age dependent pharmacokinetics. *Eur J Clin Pharmacol.* 1995; 47: 507–511.
90. Bright RD. Methotrexate in the treatment of psoriasis. *Cutis.* 1999; 64: 332–334.
91. Djerassi I. Methotrexate infusions and intensive supportive care in the management of children with acute lymphocytic leukemia: follow-up report. *Cancer Res.* 1967; 27: 2561–2564.
92. Frei E 3rd, Blum RH, Pitman SW et al. High dose methotrexate with leucovorin rescue. Rationale and spectrum of antitumor activity. *Am J Med.* 1980; 68: 370–376.
93. Djerassi I. High-dose methotrexate (NSC-740) and citrovorum factor (NSC-3590) rescue: background and rationale. *Cancer Chemother Rep.* 1975; 6: 3–6.
94. Yap HY, Blumenschein GR, Yap BS et al. High-dose methotrexate for advanced breast cancer. *Cancer Treat Rep.* 1979; 63: 757–761.
95. Bleyer WA. Methotrexate: clinical pharmacology, current status and therapeutic guidelines. *Cancer Treat Rev.* 1977; 4: 87–101.
96. Widemann BC, Balis FM, Kempf-Bielack B, et al. High-dose methotrexate induced nephrotoxicity in patients with osteosarcoma. *Cancer.* 2004; 100: 2222–32.
97. Ferrari S, Palmerini E, Staals E, et al. Sex- and age-related chemotherapy toxicity in patients with non-metastatic osteosarcoma. *J Chemother.* 2009; 21: 205–10.
98. Ackland SP, Schilsky RL. High-dose methotrexate: a critical reappraisal. *J Clin Oncol.* 1987; 5: 2017-31.
99. Stoller RG, Jacobs SA, Drake JC. Pharmacokinetics of high-dose methotrexate. *Cancer Chemother Rep* 1975; 6: 19-24.
100. Abelson HT, Fosburg MT, Beardsley GP, Goorin AM, Gorka C, Link M, Link D. Methotrexate-induced renal impairment: clinical studies and rescue from systemic toxicity with high-dose leucovorin and thymidine. *J Clin Oncol.* 1983; 1: 208-16.

101. Treon SP, Chabner BA. Concepts in use of high-dose methotrexate therapy. *Clinical Chemistry*. 1996; 42, 8(B): 1322-1329.
102. Ferrari S, Orlandi M, Avella M, Caldora P, Ferraro A, Ravazzolo G, Bacci G. Effetto dell'idratazione sulle concentrazioni plasmatiche del methotrexate in pazienti con osteosarcoma trattati con alte dosi di methotrexate. *Minerva Med*. 1989; 83: 289-93.
103. Jacobs SA, Stoller RG, Chabner BA, Johns DG. 7-Hydroxymethotrexate as a urinary metabolite in human subjects and rhesus monkeys receiving high-dose methotrexate. *J Clin Invest*. 1976; 57: 534-8.
104. Sand TE, Jacobsen S. Effect of urine pH and flow on renal clearance of methotrexate. *Eur J Clin Pharmacol*. 1981; 19: 453-6.
105. Stewart CE, Fleming RA, Germain BF, Seleznick Mi, Evans WE. Aspirin alters methotrexate disposition in rheumatoid arthritis patients. *Arth Rheum* 1991; 34: 1515-9.
106. Fox RM. Methotrexate nephrotoxicity. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1979; 5: 43-4.
107. Jaffe N, Robertson Fl, Ayala A, Wallace S, Chuang V, Anzai I, et al. Comparison intraarterial cis-diamminedichloroplatinum II with high-dose methotrexate and citrovorum factor rescue in the treatment of primary osteosarcoma. *J Clin Oncol*. 1985; 3: 1101-4.
108. Stoller RG, Hande KR, Jacobs SA, Rosenberg SA, Chabner BA. Use of plasma pharmacokinetics to predict and prevent methotrexate toxicity. *N Engl J Med* 1977;297:630-4.
109. Goldman ID, Matherly LH, 1985. The cellular pharmacology of methotrexate. *Pharmacol. Ther*. 1985; 28: 77–102.
110. Genestier L, Paillot R, Quemeneur L, Izeradjene K, Revillard JP. Mechanisms of action of methotrexate. *Immunopharmacology*. 2000; 47: 247–257.
111. Moran RG, Werkheiser WC, Zakrzewski SF. Folate metabolism in mammalian cells in culture: I. Partial characterization of the folate derivatives present in L1210 mouse leukemia cells. *J. Biol. Chem*. 1976; 251: 3569–3575.

112. Price EM, Ratnam M, Rodeman KM, Freisheim JH. Characterization of the methotrexate transport pathway in murine L1210 leukemia cells: involvement of a membrane receptor and a cytosolic protein. *Biochemistry*. 1988; 27: 7853–7858.
113. Messmann R, Allegra CJ. Antifolates. In Chabner BA, Longo D, eds. *Cancer Chemotherapy and Biotherapy*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 139–184.
114. Chabner BA, Allegra CJ, Curt GA et al. Polyglutamation of methotrexate: Is methotrexate a prodrug? *J Clin Invest*. 1985; 76: 907–912.
115. Valerino DM, Johns DG, Zaharko DS, Oliverio VT. Studies of the metabolism of methotrexate by intestinal flora: Identification and study of biological properties of the metabolite 4-amino-4-deoxy-N-10-methylpteroic acid. *Biochem Pharmacol*. 1972; 21: 821–831.
116. Offinger KC, Hudson MM. Long term complications following childhood and adolescent cancer: foundations for providing Risk-based health care for survivors. *CA Cancer J Clin*. 2004; 54: 208–36.
117. Lipshultz SE, Stuart SR, Lipsitz SR, et al. Female sex and higher drug dose as risk factors for late cardiotoxic effects of doxorubicin therapy for childhood cancer. *NEJM*. 1995 (26); 332: 1738–43.
118. Longhi A, Ferrari S, Ferrari C, et al. Late side effects of osteosarcoma neoadjuvant chemotherapy: the experience at Rizzoli Institute. In: *Proceedings of the Annual Meeting of ASCO 2006*, Abstract 9508.
119. Bramer J, Abudu A, Tillman R, Carter S, Sumathi V, Grimer R. Pre- and post-chemotherapy alkaline phosphatase levels as prognostic indicators in adults with localised osteosarcoma. *European Journal of Cancer*. 2005; 41: 2846–2852
120. Thorpe WP, Reilly JJ, Rosenberg SA. Prognostic significance of alkaline phosphatase measurements in patients with osteogenic sarcoma receiving chemotherapy. *Cancer*. 1979; 43: 2178–2181.
121. Singh I, Tsang KY, Ludwig GD. Alkaline phosphatase and ultrastructural alterations in human osteosarcoma cells in tissue culture. *Eur Surg Res*. 1974; 6: 247–263.
122. Bacci G, Longhi A, Ferrari S, et al. Prognostic significance of serum alkaline phosphatase in osteosarcoma of the extremity treated with neoadjuvant

- chemotherapy: recent experience at Rizzoli Institute. *Oncol Rep.* 2002; 9, 171–175.
123. Ferrari S, Bertoni F, Mercuri M, et al. Predictive factors of disease-free survival for non-metastatic osteosarcoma of the extremity: an analysis of 300 patients treated at flie Rizzoli Institute. *Ann Oncol.* 2001; 12: 1145–1150.
 124. Bacci G, Ferrari S, Delepine N, et al. Predictive factors of histologic response to primary chemotherapy in osteosarcoma of the extremity: study of 272 patients pre-operatively treated with high-dose methotrexate, doxorubicin, and cisplatin. *J Clin Oncol.* 1998; 16: 658–663.
 125. Bacci G, Ferrari S, Sangiorgi L, et al. Prognostic significance of serum lactate dehydrogenase in patients with osteosarcoma of the extremities. *J Chemother.* 1994; 6: 204-210.
 126. Beckingsale T, Gerrand C. Osteosarcoma. *Orthopaedics and trauma.* 2010; 24(5): 321-331.
 127. Ta H, Dass C, Choong P, Dunstan D. Osteosarcoma treatment: state of the art. *Cancer Metastasis Rev.* 2009; 28: 247-63.
 128. Ferrari S, Sassoli V, Orlandi M, et al. Serum methotrexate (MTX) concentrations and prognosis in patients with osteosarcoma of the extremities treated with a multidrug neoadjuvant regimen. *J Chemother.* 1993; 5: 135-141.
 129. Delepine N, Delepine G, Comille H, Brion F, Amaud P, Desbois JC. Dose escalation with pharmacokinetics monitoring in methotrexate chemotherapy of osteosarcoma. *Anticancer Res.* 1995; 15: 489-494.
 130. Delepine N, Delepine G, Bacci G, Rosen G, Desbois JC. Influence of methotrexate dose intensity on outcome of patients with high grade osteogenic osteosarcoma. *Cancer.* 1996; 78: 2127-2135.
 131. Graf N, Winkler K, Betlemovic M, et al. Methotrexate pharmacokinetics and prognosis in osteosarcoma. *J Clin Oncol.* 1994; 12: 1443–51.
 132. Macdonald J. Cancer chemotherapy and the liver. *Clinical Liver Disease.* 1998; 2: 631-642.
 133. Zacharia H, Sogaard H. Metotrexate induced liver cirrhosis. A follow. *Dermatologica.* 1987; 5: 207-212.

134. Outryve S, Schrijvers D, Brand J, Wilmes P, Bogers J, Marck E, Vermorken J. Methotrexate associated liver toxicity in a patient with breast cancer: case report and literature review. *The Netherland Journal of Medicine*. 2002; 60(5): 132-139.
135. Bleyer WA. New vistas for leucovorin in cancer chemotherapy. *Cancer*. 1989; 63(6 Suppl): 995–1007.
136. Comandone A, Passera R, Boglione A, Tagini V, Ferrari S, Cattel L. High dose methotrexate in adult patients with osteosarcoma: clinical and pharmacokinetic results. *Acta Oncol*. 2005; 44(4): 406–411.
137. Holmboe L, Andersen A, Morkrid L, Slordal L, Hall K. High-dose methotrexate chemotherapy: pharmacokinetics, folate and toxicity in osteosarcoma patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2011;
138. van Oosterwijk JG, Anninga JK, Gelderblom H, Cleton-Jansen AM, Bovée JV. Update on targets and novel treatment options for high-grade osteosarcoma and chondrosarcoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2013; 27: 1021–48.
139. Martins-Neves et al. Therapeutic implications of an enriched cancer stem-like cell population in a human osteosarcoma cell line. *BMC Cancer*. 2012; 12: 139.
140. Liu B, Ma W, Jha RK, Gurung K. Cancer stem cells in osteosarcoma: recent progress and perspective. *Acta Oncologica*. 2011; 50: 1142-1150.
141. Garvalov BK, Acker T. Cancer stem cells: a new Framework for the design of tumor therapies. *J Mol Med*. 2011; 89: 95-107.
142. Puls F, Niblett AJ, Mangham DC. Molecular pathology of bone tumours: diagnostic implications. *Histopathology*. 2014; 64(4): 461-76.
143. Ypsilantis PP, Siddique M, Sohn HM, Davies A, Cook G, Goh V, Montana G. Predicting response to neoadjuvant chemotherapy with PET imaging using convolutional neural networks. *Plos One*. 2015; 10(9)
144. Leijenaar R et al. The effect of SUV discretization in quantitative FDG-PET radiomics: the need for standardized methodology in tumor texture analysis. *Sci Rep*. 2015; 5: 11075.
145. Kourou K, Exarchos TP, Exarchos KP, Karamouzis MV, Fotiadis D. Machine learning applications in cancer prognosis and prediction. *Comput Struct Biotechnol J*. 2015; 13: 8-17.

146. Parmar C et al. Machine learning methods for quantitative radiomic biomarkers. Sci Rep. 2015; 5: 13087

9. Anexo

Artigo submetido para publicação na Revista Portuguesa de Oncologia (RPO)

Título

Osteossarcoma, Quimioterapia Neoadjuvante e Metotrexato Alta-Dose

Title

Osteosarcoma, Neoadjuvant Chemotherapy and High-Dose Metotrexate

Autores

João Metello¹, Juliana Felgueiras², Margarida Fardilha^{2,3}, Fernando Morgado³

Filiação dos Autores

1. Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias e Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Serviço de Patologia Clínica
2. Secção Autónoma das Ciências da Saúde, Universidade de Aveiro
3. Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro

Instituição, Serviço, Cidade ou País onde foi desenvolvido o trabalho

Universidade de Aveiro, Departamento de Biologia, Campus Universitário de Santiago, 3810-193 Aveiro, Portugal

Financiamentos

Os autores declaram não terem obtido financiamentos de qualquer espécie para a execução do artigo.

Conflitos de interesses

Os autores declaram não existirem conflitos de interesse de qualquer tipo.

Nome, morada, telefone e e-mail do autor para correspondência

João Metello: Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias, gab. 14, Avenida do Empresário – Campus da Talagueira, 6000-767 Castelo Branco, Portugal; Tel. +351 272 340 560 ext 5114; email: joaometello@ipcb.pt.

Título breve para rodapé

Osteossarcoma, Quimioterapia Neo-Adjuvante e Metotrexato Alta-Dose

Título

Osteossarcoma, Quimioterapia Neoadjuvante e Metotrexato Alta-Dose

Resumo

Sarcomas são processos malignos do tecido conjuntivo, onde se inclui tecido adiposo, músculo, vasos sanguíneos (sarcomas dos tecidos moles) e ossos (sarcomas ósseos), de origem mesenquimal.

Os tumores ósseos são os mais raros de todos os tipos de neoplasias. Estima-se que cerca de 2600 novos casos de sarcomas ósseos sejam registados anualmente nos EUA, correspondendo a apenas cerca de 0,2% de todos os tipos de tumores.

As manifestações clínicas dependem do local anatómico de origem.

A incidência para os sarcomas ósseos é bimodal: na faixa etária entre os 10 e os 30 anos (preponderante), e a partir dos 55 anos.

O tratamento inclui cirurgia (radical ou preservadora do membro), com poliquimioterapia, antes e após cirurgia, que poderão ter efeitos secundários importantes. Monitorização da administração do HDMTX é requerida para os evitar.

Abstract

Sarcomas are malignant processes of connective tissue, which includes adipose tissue, muscle, blood vessels (soft tissue sarcomas) and bone (bone sarcomas), of mesenchymal origin.

Bone tumors are the rarest of all kinds of malignancies. It is estimated that about 2,600 new cases of bone sarcomas are recorded every year in the USA, accounting for only about 0.2% of all tumor types.

Clinical manifestations depend on the anatomic site of origin.

The incidence for bone sarcomas is bimodal: in the age group between 10 and 30 (major) and from the age of 55.

Treatment includes surgery (radical or preserving member) with polychemotherapy before and after surgery, which may have important side effects. HDMTX Administration monitoring is required to avoid them.

Palavras-chave

Osteossarcoma, Sarcomas Ósseos, Neoplasias Ósseas Infanto-Juvenis, Metotrexato Alta Dose (HDMTX)

Key words

Osteosarcoma, Osteogenic Sarcoma, Infant Juvenile Bone Tumors High Dose Methotrexate (HDMTX)

Introdução

Os sarcomas são um grupo de tumores sólidos heterogêneos, com origem no mesenquima embrionário, que podem afetar tecidos ósseos (sarcomas ósseos) ou outros tipos de tecidos (sarcomas de tecidos moles). Os sarcomas ósseos são tumores relativamente raros, representando menos de 0,2% da totalidade dos tumores malignos^{1,2}. Atualmente distinguem-se vários subgrupos de sarcomas ósseos que incluem o osteossarcoma (OS), o sarcoma de Ewing e o condrossarcoma^{2,3,4}. O OS é o tumor ósseo primário maligno mais comum, estimando-se que sejam diagnosticados cerca de 400 novos casos/ano nos EUA^{5,6}. A incidência do OS apresenta uma distribuição bimodal, com picos de incidência em adolescentes e idosos. Segundo um estudo publicado em 2006, o OS representa 51% e 55% dos tumores ósseos diagnosticados em crianças e adolescentes na Europa, respetivamente, entre 1978 e 1997^{6,7}. Enquanto a incidência de OS em faixas etárias mais jovens parece relativamente constante nos vários países, a incidência de OS em idosos parece ser mais dependente da distribuição geográfica^{2,8,9}. Nos idosos, o OS surge frequentemente associado a outras comorbilidades (ex.: doença de Paget óssea) ou como consequência de procedimentos clínicos (ex.: pós-radioterapia)^{10,11,12}.

A localização preferencial do tumor primário varia de acordo com a faixa etária: nas crianças, adolescentes e jovens adultos ocorre com maior frequência nos membros inferiores (ossos que denotam uma maior atividade de divisão celular associada ao crescimento); já nos pacientes adultos e idosos os ossos chatos passam a ser os mais afetados^{13,14}.

Nas três últimas décadas, a abordagem clínica a doentes com suspeita ou diagnóstico confirmado de tumores ósseos alterou significativamente. Com os tratamentos atuais, de poliquimioterapia sistémica antes e após cirurgia, a sobrevida a 5 anos é superior a 50%, sendo semelhante entre indivíduos do sexo feminino e masculino, e menor em indivíduos com mais de 65 anos¹⁵. Contudo, muitos doentes continuam a ser diagnosticados tardiamente, apresentando na altura do diagnóstico lesões extensas e metastáticas que comprometem o tratamento e a preservação do membro afetado^{5,16}.

Esta estratégia terapêutica tem no Metotrexato administrado em altas doses, um aliado importante para a obtenção das taxas de eficácia^{17,18}. A sua utilização no entanto, pressupõe a observação de certas condições no doente, como: (1) função renal adequada, (2) hidratação adequada, (3) alcalinização do pH urinário, (4) monitorização das

interacções medicamentosas, (5) drenagem dos terceiros compartimentos e (6) monitorização das concentrações séricas do MTX^{19,20}.

Este artigo tem por objectivo fazer uma revisão sobre o osteossarcoma, as suas modalidades de tratamento e a importância que o MTX tem para a obtenção das taxas de sucesso de tratamento, não deixando de alertar para os potenciais efeitos secundários da sua utilização e como evitá-los, fazendo ainda uma breve nota sobre possíveis alvos futuros de investigação para o tratamento do osteossarcoma.

Etiologia do osteossarcoma

A biologia do OS é um assunto complexo e continua sem ser cabalmente esclarecida. Em grande parte, esta lacuna no conhecimento deve-se à grande heterogeneidade intratumoral que origina um largo espectro de tumores osteogénicos distintos, assim como à agressividade dos tumores que requer uma quimioterapia pré-cirúrgica de alta-dose que, consequentemente, destrói grande parte do tecido passível de ser usado para estudo^{1,2}. Por estes motivos, uma das principais linhas de investigação relacionadas com o OS tem em vista o estabelecimento de modelos de estudo capazes de mimetizar o OS humano. Estes modelos têm permitido grandes avanços no estudo da etiologia da doença, principalmente no que refere aos eventos moleculares subjacentes ao seu desenvolvimento e progressão²¹. Devido à presença de osteóide, foi inicialmente pensado que OS teria a sua origem na transformação maligna de osteoblastos. No entanto, estudos posteriores demonstraram que várias alterações genéticas e epigenéticas podem comprometer a diferenciação osteoblástica e potenciar o desenvolvimento de OS, defendendo assim a sua origem a partir de células mesenquimais estaminais. Este assunto tem vindo a ser amplamente discutido e foi recentemente o foco de um artigo de revisão^{21,22}.

O OS é caracterizado por uma grande instabilidade genómica e alterações genéticas. Esta premissa foi desde cedo suportada pela observação de que indivíduos com determinadas síndromes familiares (ex.: retinoblastoma e síndromes de Li-Fraumeni, Rothmund-Thomson e Werner) tinham uma maior propensão para o desenvolvimento de OS²³. De salientar, o OS é o segundo tumor mais comum em pacientes com retinoblastoma e síndrome de Li-Fraumeni—doenças associadas a mutações nos genes supressores tumorais *RBI* e *TP53*, respetivamente^{24,25}. A perda destes genes é também frequentemente observada em casos de OS esporádico. Apesar das alterações nestes genes serem as mais

frequentemente observadas em pacientes com OS, outras alterações genéticas têm vindo a ser associadas ao desenvolvimento da doença^{26,27}.

Esta série de eventos genéticos modificados, por sua vez, conduz a alterações de várias moléculas sinalizadores e, conseqüentemente, à desregulação de várias vias de sinalização celular (ex.: vias de sinalização do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), do alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR), do Wnt, de Hedgehog, etc.). Estas vias de sinalização regulam processos celulares vitais e, como tal, a sua desregulação interfere com a dinâmica das células, levando a alterações nomeadamente na proliferação, apoptose e angiogénese. Mais recentemente, vários microRNAs (miRNAs)—RNAs não codificantes altamente conservadas—têm vindo a ser associados ao OS. A expressão aumentada do miR-181a/b/c e diminuída dos miR-16, miR-29b e miR-142-5p têm sido frequentemente observadas²⁵⁻²⁷.

A evolução e agressividade do tumor primário levam frequentemente à formação de metástases que se alojam principalmente nos pulmões e são a principal causa de morte no OS²⁸.

Por outro lado, há alguns factores que são reconhecidos como sendo factores de risco para o desenvolvimento do OS, como tratamentos radioterápicos (exposição a radiações) e doenças ósseas pré-existentes (como a doença de Paget óssea). São exemplos de situações que provocam sobrecarga da actividade osteoblástica, que conseqüentemente podem levar a mutações no DNA, que poderão conduzir ao aparecimento do OS^{5,29}.

Abordagem clínica ao osteossarcoma

As manifestações clínicas do OS podem surgir vários meses antes do diagnóstico definitivo. Contudo, tal como noutros tumores ósseos, a sintomatologia não é específica. Dor localizada e intumescimento são manifestações clínicas típicas da doença, podendo o exame físico revelar uma massa palpável. Em alguns casos, regista-se ainda o aumento de temperatura local e a presença de veias dilatadas na camada subcutânea devido ao crescimento do tumor.^{1,7,10,29-32}

O diagnóstico e o estadiamento do OS são feitos a partir de biópsia e revisão adequada da imagiologia, com recurso a radiografias simples da lesão e RMN ou TAC^{14,29,33}. Segundo a WHO, a definição de OS implica: (1) a existência de um tumor maligno formador de osso; (2) a formação de osteóide neoplásico e de osso pelos osteoblastos malignos; e (3) a

presença de um estroma sarcomatoso. No entanto, a produção de matriz osteóide pode estar de tal forma concentrada que se torna impossível identificá-la na amostra de tecido recolhido. Como tal, o diagnóstico de OS pode ser aceitável mesmo na ausência matriz osteóide, desde apresente outros aspetos clássicos que permitam identifica-lo como um determinado tipo OS. Contudo, a grande variedade histológica observada no OS pode dificultar a sua classificação na biópsia (Tabela I).^{34,35}

O OS pode ainda ser classificado tendo em conta o grau de diferenciação em: alto grau, de grau intermédio e de baixo grau (Tabela II). O grau de diferenciação permite inferir acerca do tipo de evolução do tumor e do seu comportamento no que refere à invasão dos tecidos vizinhos. A determinação do grau do tumor desempenha um papel primordial no estabelecimento do seu estadió de evolução e na escolha do tratamento a utilizar.^{31,36,37}

Regra geral, o diagnóstico radiológico é feito sem problemas quando a destruição óssea está combinada com a formação de osso novo, mas a terapia definitiva não deverá nunca ser iniciada sem a confirmação por intermédio da biópsia. Além destes, a cintigrafia óssea com ⁹⁹Tc e a PET tornaram-se ferramentas imprescindíveis para avaliar a extensão do tumor primário e a presença de metástases, e o comportamento do tumor em relação à eficácia do tratamento, respetivamente.^{38,39}

A utilização de exames laboratoriais no diagnóstico e prognóstico dos pacientes com OS central são ainda limitados. O nível sérico da fosfatase alcalina, indicador da atividade osteoblástica, pode estar elevado, principalmente no OS osteoblástico. No entanto, valores normais não invalidam a presença da doença, principalmente nas formas anaplásicas com pequena produção óssea, e tão pouco, se correlacionam com a regressão da doença. A desidrogenase láctica (LDH) também pode apresentar valores elevados no OS.⁴⁰⁻⁴²

Um estadiamento cuidadoso deve preceder o tratamento do OS. Frequentemente, biópsias mal realizadas provocam a extensão extracompartimental de uma lesão que até esse momento era intracompartimental. Da mesma forma, a formação de hematomas e complicações na cicatrização da ferida da biópsia devem ser evitadas.⁴²⁻⁴⁴

À data do diagnóstico, e embora o OS seja encarado como uma doença sistémica, a maioria dos doentes apresentam micrometástases, havendo cerca de 15 a 20% que apresentam já doença metastática. A metástase é predominantemente hematogénica com a produção de depósitos pulmonares em cerca de 85% dos casos. A metástase para outros

ossos pode ser precoce e disseminada, o que sugere origem multifocal do sarcoma ou atrasada e localizada, o que leva a crer que surgiu um novo tumor.^{11,30,35,45}

Novas modalidades de abordagem diagnóstica, como a imuno-histoquímica, a citometria de fluxo e a citogenética, têm vindo a ser implementadas no diagnóstico das neoplasias ósseas. No entanto, a sua contribuição é ainda limitada. Mais recentemente, marcadores moleculares, incluindo a perda de heterozigotia da p53 e pRB, a ausência de mecanismos de manutenção dos telómeros e a sobreexpressão de HER2, glicoproteína-P e proteína 5 têm sido associados a fatores de prognóstico. Até agora, nenhum destes marcadores mostrou ser mais confiável do que os marcadores histológicos na resposta à quimioterapia pré-operatória. Assim, o diagnóstico atual continua a depender da correta análise do material removido por biópsia⁴⁵⁻⁵².

Tratamento do osteossarcoma

Até 1970, o tratamento de eleição para o OS central era a cirurgia ablativa do membro acometido pelo tumor. No entanto, verificava-se que não mais de 20% destes pacientes sobreviviam além de 5 anos, até mesmo nos melhores centros de tratamento dos EUA e UE. Após a ressecção cirúrgica e/ou radioterapia das extremidades do OS operável, 80 a 90% dos pacientes viriam a desenvolver doença recorrente e/ou metástases no intervalo de 2 anos, com taxas de sobrevivência entre os 15 e 20%.^{15,53-55}

Atualmente, a abordagem curativa para o OS envolve quimioterapia e cirurgia (Tabela III), sendo a quimioterapia administrada de forma neoadjuvante e adjuvante. Antes da cirurgia definitiva, a quimioterapia apresenta várias vantagens fulcrais: o tratamento precoce das micrometástases, a facilitação da cirurgia de remoção do tumor, dar tempo para produzir sob medida endopróteses e ainda proporcionar a hipótese de cirurgia preservadora do membro.^{56,57}

Os regimes de tratamento quimioterápico são maioritariamente baseados em doxorrubicina (A), cisplatina (P), e metotrexato (MTX) em alta-dose (sendo que este se mantém ainda controverso), com restabelecimento da função por leucovorina. Consoante os resultados obtidos, pode ou não ser adicionado outro agente, a ifosfamida (I). Estes agentes são tipicamente associados para melhorar a resposta, embora ainda existam algumas controvérsias quanto à combinação e duração ideais da terapia. Com os actuais regimes de tratamento e agentes quimioterápicos existentes, a taxa de sobrevivência aos 5 anos livre de eventos ronda os 70%.^{56,57}

Até à data, não existem marcadores moleculares validados para monitorizar a resposta à quimioterapia e a sobrevida global. O factor prognóstico mais importante continua a ser o grau de necrose atingido após a quimioterapia neoadjuvante, em que necrose $\geq 95\%$ representa um bom prognóstico para o doente^{44,58}.

MTX

O Metotrexato (MTX), assim como os antifolatos relacionados, é um agente citostático, cuja estrutura apresenta semelhança com os folatos naturais apenas diferenciada pela substituição chave do grupo amino no C4 no anel de pteridina, sendo esta a alteração estrutural que lhe confere a capacidade de se ligar à enzima Dihidrofoloreductase (DHFR), enzima responsável pela manutenção dos níveis de Tetrahidrofolatos necessários à síntese de DNA.⁵⁹

O MTX, tal como os folatos fisiológicos, é convertido intracelularmente em poliglutamatos, sendo que estes são retidos de modo preferencial dentro da célula, inibindo então o funcionamento de outras enzimas folato dependentes, como a Timidilato Sintetase (TS) e as enzimas iniciais da biossíntese das purinas. Os efeitos acumulativos da inibição dos múltiplos locais de ligação enzimáticos, levam ao esgotamento dos folatos intracelulares e consequentemente ao bloqueio da síntese das purinas e pirimidinas.⁶⁰

Uma vez que o MTX tem carga electronegativa a pH fisiológico, ele penetra o interior das células lentamente, necessitando por isso de um transportador activo. Os poliglutamatos de MTX, uma vez que têm carga negativa, são retidos muito mais tempo no interior celular, o que prolonga o efeito do MTX. O composto original é sujeito à acção de efluxo pelos membros da família proteica transportadora ABC.⁵⁹

Os poliglutamatos de MTX impedem a geração de formas bioactivas de folato, inibem a formação *de novo* de pirimidinas e causam a acumulação intracelular de carboxiamida aminoimidazol adenosina ribonucleótido (AICAR) na via de síntese *de novo* das purinas. Esta acumulação leva por sua vez à inibição da adenosina desaminase (ADA) e da adenosina monofosfato (AMP) desaminase, causando por isso acumulação da adenosina, a qual tem função anti-inflamatória.⁶¹

Os efeitos celulares do MTX estão representados na figura 1.

MTX e osteossarcoma

O MTX é utilizado no tratamento do OS desde os anos 70, altura em que se verificou que a sua administração num grupo de 20 pacientes com OS, durante uma semana, melhorava significativamente a sobrevida dos mesmos. Nessa altura, no advento da quimioterapia, o MTX foi usado como agente único, bem como outros agentes, como a cisplatina. Nessa altura, ainda muito se desconhecia dos efeitos secundários ao uso destes compostos.^{40,45,48}

A sobrevida a longo prazo para pacientes com osteosarcoma melhorou com a introdução da quimioterapia sistémica, mas o subsequente avanço na melhoria do tratamento, pouco mais avançou. Citostáticos modernos, poliquimioterapia, doses intensivas associadas a cirurgia puderam aumentar a sobrevida sem incidentes a 5 anos em tumores das extremidades não metastáticos até uns 60 – 70%.⁴⁶

Sendo a quimioterapia essencial para a sobrevivência a longo termo destes pacientes, doxorubicina (A), cisplatina (P), ifosfamida (I) e metotrexato (MTX) são os 4 agentes quimioterápicos primários com reconhecida eficácia. No entanto, a influência da dose, bem como da intensidade da dosagem dos agentes na quimioterapia do OS tem sido amplamente discutida.^{32,39,40}

A baixa incidência do osteosarcoma é um grande argumento para o estabelecimento de colaboração internacional e levou à criação de vários grupos de estudo multi-institucionais cooperativos internacionais, quer nos EUA quer na Europa, como o POG (Pediatric Oncology Group), o COG (Children's Oncology Group), SFOP (Société Française d'Oncologie Pédiatrique), COSS (Cooperative Osteosarcome Study Group), SSG (Scandinavian Study Group), ISG (Italian Study Group), o EOSG (European Osteosarcome Study Group), não olvidando no entanto o pioneiro dos estudos sobre osteosarcoma, o MSKCC (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center).⁵

A diferença entre os efeitos da Intensidade da Dose das outras drogas usadas e do MTX nos resultados de sobrevida dos pacientes, implica diferenças intrínsecas. As doses usadas de Cisplatina e Doxorubicina são na maioria das vezes limitadas a gamas muito estreitas devida à toxicidade tardia inevitável. Pelo contrário, a toxicidade sistémica e neurotoxicidade do MTX pode ser evitada se os níveis farmacológicos do MTX forem monitorizados com precisão e que se possa prevenir a toxicidade com uma adequada hidratação e recuperação com Leucovorina.^{45,46}

Nos pacientes com osteosarcoma, administram-se doses altas de MTX com a finalidade de aumentar a concentração intracelular e a consequente formação de poliglutamatos. Estas doses são consideradas como potencialmente letais (de 3 a 20g/m²), devem ser infundidas por um período de 6 a 24H, seguidas posteriormente de administração (resgate) de Leucovorina algumas horas após a infusão de MTX, em doses de 15 a 100 mg/m², que tem como objectivo restaurar os níveis de intracelulares de tetrahidrofolatos e recupera os tecidos normais da toxicidade medicamentosa^{62,63}. Dada a tendência do MTX precipitar e cristalizar nos túbulos renais a pH ácido, os doentes devem ser hidratados e alcalinizados antes do início da administração do fármaco, sendo que esta hidratação, medição da diurese e controlo da alcalinização deverá ser mantida durante todo o processo de infusão do fármaco, devendo ser suspensa em caso de anomalia^{64,65}. Durante a infusão, deve ser feito controlo estreito da concentração sérica do fármaco, por via de ensaios laboratoriais. Concentrações de MTX séricos >1,0 µM após 24H de infusão, associadas a valores laboratoriais indicadores de insuficiência renal, deverão fazer o clínico suspeitar de um quadro sério de toxicidade. Como primeiro passo para evitar esta toxicidade, poder-se-á prolongar a administração de Leucovorina e mesmo aumentar a dose de resgate (até 500 mg cada 6H). Se a toxicidade se mantiver, ou a declinação dos valores séricos do MTX se mostrar muito lenta, a diálise poderá ser uma das soluções a equacionar, para reduzir as concentrações do medicamento. A depuração muito rápida do fármaco e o resgate efectivo da toxicidade, podem ser alcançados por meio da utilização de uma enzima bacteriana intestinal que cinde o folato, a carboxi-peptidase G-2^{66,67}. As funções renais e hepáticas devem ser constantemente monitorizadas laboratorialmente. Por isso, doseamentos de Creatinina (Cre), Azoto Ureico (BUN) e electrólitos (Na, K e Cl) avaliam a função renal e de Transaminases (ALT e AST), Gamaglutamil Transferase (GGT) e Bilirrubina Total avaliam a função hepática. No início e final de cada ciclo de quimioterapia, deve ser avaliada a função hematológica para prevenção da mielossupressão, por via de contagens laboratoriais de eritrócitos (GV – eritrograma), leucócitos totais (GB – leucograma) e respectivas séries (fórmula leucocitária) e contagem de plaquetas (PLT)⁶⁸⁻⁷⁴.

Conclusão

Os factores prognósticos tradicionais para o OS localizado incluem a idade, tamanho e localização do tumor (axial vs extremidades), margem da ressecção cirúrgica, resposta à

quimioterapia pré-operatória, e a duração do intervalo de tempo antes da recaída (<2 anos vs >2 anos). O risco da mortalidade aumenta quando a avaliação é feita por décadas de vida. O pior prognóstico para doentes com mais de 40 anos, está ligado ao tipo de tumor (mais axial do que extremidades), maior frequência de metastização à data de diagnóstico, e uma diminuição da tolerância à quimioterapia em regimes de alta-dose.^{2,6,30,33}

O papel da quimioterapia em dose metronómica no tratamento do OS ainda não está devidamente estabelecido, mas poderá fornecer meios eficazes de combate ao tumor em pacientes com doença metastática. O futuro passará pela pesquisa de agentes quimioterápicos e combinações mais efetivas, assim como terapias direcionadas que explorarão as características genéticas destes tumores. O papel das abordagens de modalidade combinada incorporando a QT está a ser cada vez mais explorado no tratamento destes tumores. O progresso limitado nos sarcomas adultos deve ser um fator encorajador à entrada dos pacientes em ensaios clínicos.^{11,36}

As melhorias no tratamento deverão ser acompanhadas com progressos no diagnóstico e monitorização da doença. Vários estudos genéticos estão a ser conduzidos no sentido de detetar precocemente o OS, e de estudar o seu prognóstico e a sua resistência à quimioterapia, como o estudo do *Multiple Drug Resistance* (MDR). O estudo do gene supressor tumoral p53 mostra que este se apresenta alterado em cerca de aproximadamente 3% de crianças com OS. Outros genes, como o p16 e o pRb, estão a ser estudados na tentativa de correlacionar eventuais mutações com o prognóstico do paciente, bem como com o diagnóstico precoce da doença.^{14,32,39} No entanto, há muitos resultados contraditórios nos estudos já efectuados e publicados, e por isso mesmo, não há marcadores moleculares disponíveis até ao momento.³¹

Actualmente há uma variedade de agentes que apareceram e que podem ter um potencial interesse no OS de alto grau. Entre eles temos novas vias de libertação das drogas, a imunoterapia, abordagem de diversos alvos moleculares das vias de sinalização, e ainda a manipulação do microambiente tumoral. A investigação básica identificou vários alvos possíveis e tal levou ao aparecimento de um amplo espectro de drogas utilizáveis.^{1,29,34,35}

A quimioterapia convencional é essencial para melhorar a sobrevida dos pacientes com OS de alto grau, mas chegou a um patamar de desenvolvimento estável desde o início da década de 90. Os esforços desenvolvidos para melhorar os regimes quimioterapêuticos, não mostraram ser eficazes na melhoria da sobrevida dos pacientes.^{3,5,14,30,32}

Continua a ser necessária e até mesmo urgente, o estabelecimento de novas linhas e metodologias de investigações, para obter novas modalidades/vias de tratamento, para obtermos tratamento alvo-selectivos, o que seria o ideal.^{32,39,48,75,76}

Referências:

1. Hartmann JT, Kopp HG. Bone sarcomas. Update on cancer therapeutics. 2006;1:65–74.
2. Sumathi VP, Jeys L, Darbyshire A. Primary malignant tumours of the bone. Surgery. 2011;30(2):72-79.
3. Herzog CE. Overview of sarcomas in the adolescent and young adult population. J Pediatr Hematol Oncol. 2005;27(4):215–8.
4. Stiller CA, Bielack SS, Jundt G, Steliarova-Foucher E. Bone tumours in European children and adolescents, 1978-1997. Report from the Automated Childhood Cancer Information System project. Eur J Cancer 2006; 42(13): 2124-35.
5. Luetke A, Meyers PA, Lewis I, Juergens H. Osteosarcoma treatment – Where do we stand? A state of the art review. Cancer Treatment Reviews. 2014;40:523–532.
6. Beckingsale TB, Gerrand CH. Osteosarcoma. Orthopaedics and Trauma. 2010;24(5):321-331.
7. Campanacci M. Bone tumors. 2nd ed. Lippincott-Verlag; 1999.
8. Mirabello L, Troisi RJ, Savage SA. International osteosarcoma incidence patterns in children and adolescents, middle ages and elderly persons. Int J Cancer 2009; 125(1): 229-34.
9. Stiller CA, Trama A, Serraino D, *et al.* Descriptive epidemiology of sarcomas in Europe: report from the RARECARE project. Eur J Cancer 2013; 49(3): 684-95.
10. Majó J, Cubedo R, Pardo N. Treatment of Osteosarcoma. A review. Rev esp cir ortop traumatol. 2010;54(5):329-336.
11. Ta HT, Dass CR, Choong PFM, Dunstan DE. Osteosarcoma treatment: state of the art. Cancer Metastasis Rev. 2009;28:247-63.
12. NICE. Guidance on improving cancer services: improving outcomes for people with sarcoma. The manual. London: National Institute for Health and Clinical Excellence; 2006

13. Ritter J, Bielack SS. Osteosarcoma. *Annals of Oncology*. 2010; 21(Suppl 7):vii320-vii325.
14. Longhi A, Errani C, De Paolis M, Mercuri M, Bacci G. Primary bone osteosarcoma in the pediatric age: state of the art. *Cancer Treatment Reviews*. 2006;32:423–436.
15. Meyers PA, Gorlick R, Heller G, et al. Intensification of preoperative chemotherapy for osteogenic sarcoma: results of the Memorial Sloan-Kettering (T12) protocol. *J Clin Oncol*. 1998;16: 2452–2458.
16. Kempf-Bielack B, Bielack SS, Jürgens H, et al. Osteosarcoma relapse after combined modality therapy: an analysis of unselected patients in the Cooperative Osteosarcoma Study Group (COSS). *J Clin Oncol*. 2005; 23: 559–68.
17. Longhi A, Setola E, Versari M, Bacci G. The role of chemotherapy in the treatment of bone and soft tissue sarcomas. *Current Orthopaedics*. 2005; 19: 119–126.
18. Raymond AK, Jaffe N. Osteosarcoma multidisciplinary approach to the management from the pathologist's perspective. *Cancer Treat Res*. 2009; 152: 63–84.
19. Widemann BC, Peter C, Adamson PC. Understanding and Managing Methotrexate Nephrotoxicity. *The Oncologist*. 2006; 11: 694–703
20. Bleyer WA. Methotrexate: clinical pharmacology, current status and therapeutic guidelines. *Cancer Treat Rev*. 1977; 4: 87–101.
21. Mohseny AB, Hogendoorn PC, Cleton-Jansen AM. Osteosarcoma models: from cell lines to zebrafish. *Sarcoma* 2012; 2012(417271).
22. Mutsaers AJ, Walkley CR. Cells of origin in osteosarcoma: mesenchymal stem cells or osteoblast committed cells? *Bone* 2014; 62: 56-63.
23. Kansara M, Thomas DM. Molecular pathogenesis of osteosarcoma. *DNA Cell Biol* 2007; 26(1): 1-18.
24. Wong FL, Boice JD, Jr., Abramson DH, et al. Cancer incidence after retinoblastoma. Radiation dose and sarcoma risk. *JAMA* 1997; 278(15): 1262-7.
25. Hansen MF, Koufos A, Gallie BL, et al. Osteosarcoma and retinoblastoma: a shared chromosomal mechanism revealing recessive predisposition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; 82(18): 6216-20.

26. Toguchida J, Ishizaki K, Sasaki MS, *et al.* Preferential mutation of paternally derived RB gene as the initial event in sporadic osteosarcoma. *Nature* 1989; 338(6211): 156-8.
27. Gokgoz N, Wunder JS, Mousses S, Eskandarian S, Bell RS, Andrulis IL. Comparison of p53 mutations in patients with localized osteosarcoma and metastatic osteosarcoma. *Cancer* 2001; 92(8): 2181-9.
28. Gordon N, Kleinerman ES. Aerosol therapy for the treatment of osteosarcoma lung metastases: targeting the Fas/FasL pathway and rationale for the use of gemcitabine. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv* 2010; 23(4): 189-96.
29. Unni KK, Inwards CY, eds. Dahlin's Bone Tumors: General aspects and data on 10,165 cases. 6th ed. Philadelphia, PA 19013 USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
30. Longhi A, Errani C, De Paolis M, Mercuri M, Bacci G. Primary bone osteosarcoma in the pediatric age: State of the art. *Cancer Treatment Reviews*. 2006;32:423– 436.
31. Fletcher CD, Unni KK, Mertens F. Pathology and genetics of tumours of soft tissue and bone. Lyon: IARC Press; 2002.
32. Heymann D, Rédini, F. Bone sarcomas: Pathogenesis and new therapeutic approaches. *IBMS BoneKEy*. 2011;8:402–414.
33. Huvos AG. Bone tumors: Diagnosis, Treatment and Prognosis. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1991.
34. Greene FL, Page DL, Fleming ID, *et al.* American Joint Committee on Cancer: Cancer staging manual. 6th ed. New York, NY: Springer Verlag; 2002.
35. Kleihues P, Sobin L, Fletcher C, *et al.* WHO Classifications of Tumours: Pathology and Genetics of Tumors of Soft Tissue and Bone. Lyon, France: IARC Press; 2002.
36. Cleton-Jansen AM, Buerger H, Hogendoorn P. Central high-grade osteosarcoma of bone: Diagnostic and genetic considerations. *Current Diagnostic Pathology*. 2005;11:390–399.
37. Huvos AG. Malignant surface lesions of bone. *Curr Diagn Pathol*. 2001;7:247–50.
38. Gill J, Ahluwalia MK, Geller D, Gorlick R. New targets and approaches in osteosarcoma. *Pharmacology & Therapeutics*. 2013;137:89–99.

39. Mirabello L, Troisi RJ, Savage SA. Osteosarcoma incidence and survival rates from 1973 to 2004: data from the Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. *Cancer*. 2009;115:1531–1543.
40. Ottaviani G, Jaffe N. The epidemiology of osteosarcoma. *Cancer Treat Res*. 2009;152:3–13.
41. Herzog CE. Overview of sarcomas in the adolescent and young adult population. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2005;27(4):215-223.
42. Casas-Ganem J, Healey JH. Advances that are changing the diagnosis and treatment of malignant bone tumors. *Curr Opin Rheumatol*. 2005;17(1):79–85.
43. Pizzo PA, Poplack DG, et al. Principles and practice of pediatric oncology. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven; 1997.
44. Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, Bast Jr RC, Gansler TS, Holland JF, Frei III E. *Cancer medicine*. 6th ed. Hamilton (Canada): BC Decker Inc; 200
45. Bielack SS, et al. Prognostic factors in high-grade osteosarcoma of the extremities or trunk: an analysis of 1,702 patients treated on neoadjuvant cooperative osteosarcoma study group protocols. *J Clin Oncol*. 2002;20(3):776–90.
46. Goto A, et al. Association of loss of heterozygosity at the p53 locus with chemoresistance in osteosarcomas. *Jpn J Cancer Res*. 1998;89(5):539–47.
47. Serra M, et al. Relationship between P-glycoprotein expression and p53 status in high-grade osteosarcoma. *Int J Oncol*. 1999;14(2):301–7.
48. Feugeas O, et al. Loss of heterozygosity of the RB gene is a poor prognostic factor in patients with osteosarcoma. *J Clin Oncol*. 1996;14(2):467–72.
49. Ozaki T, et al. Genetic imbalances revealed by comparative genomic hybridization in osteosarcomas. *Int J Cancer*. 2002;102(4):355–65.
50. Ulaner GA, et al. Absence of a telomere maintenance mechanism as a favorable prognostic factor in patients with osteosarcoma. *Cancer Res*. 2003;63:1759–63.
51. Onda M, et al. ErbB-2 expression is correlated with poor prognosis for patients with osteosarcoma. *Cancer*. 1996;77(1):71–8.
52. Pakos EE, Ioannidis JP. The association of P-glycoprotein with response to chemotherapy and clinical outcome in patients with osteosarcoma. A meta-analysis. *Cancer*. 2003;98(3):581–9.

53. Friedman MA, Carter SK. The therapy of osteogenic sarcoma: current status and thoughts for the future. *J Surg Oncol.* 1972;4: 482–510.
54. Rosen G, Marcove RC, Caparros B, et al. Primary osteogenic sarcoma: the rationale for preoperative chemotherapy and delayed surgery. *Cancer.* 1979;43: 2163–2177.
55. Souhami RL, Craft AW, Van der Eijken JW, et al. Randomised trial of two regimens of chemotherapy in operable osteosarcoma: a study of the European Osteosarcoma Intergroup. *Lancet.* 1997; 350: 911–917.
56. Longhi A, Setola E, Versari M, Bacci G. The role of chemotherapy in the treatment of bone and soft tissue sarcomas. *Current Orthopaedics.* 2005; 19: 119–126.
57. Bacci G, Briccoli A, Rocca M, et al. Neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma of the extremities with metastases at presentation: recent experience at the Rizzoli Institute in 57 patients treated with cisplatin, doxorubicin, and a high dose of methotrexate and ifosfamide. *Ann Oncol.* 2003; 14: 1126–34.
58. Marina N, et al. Biology and therapeutic advances for pediatric osteosarcoma. *Oncologist.* 2004;9(4):422–41.
59. Chabner BA: Antimetabolites in Chabner BA, Lynch Jr TJ, Longo DL: *Harrison's: Manual of Oncology*, 1st ed, McGraw-Hill Companies, Inc, 2008)
60. Page CP. Curtis MJ. Sutter MC, Walker MJA. Hoffman BB. “Neoplasias” in *Farmacologia Integrada*, Ed. Manole, Lda, São Paulo-Brasil, 1999, cap. 28
61. Beganha R. Azevedo I. “Citostáticos” in Osswald W, Guimarães S: *Terapêutica Medicamentosa e suas Bases Farmacológicas*, 4ª ed. Porto Editora-Porto, 2001 Jun, cap 70
62. Bielack S, Carrle D. Casali PG. ESMO guidelines working group. Osteosarcoma: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2009; 20(Suppl. 4): 137–9.
63. Chou AJ, Geller DS, Gorlick R. Therapy for osteosarcoma: where do we go from here? *Paediatr Drugs.* 2008; 10: 315–27.
64. Widemann BC, Peter C. Adamson PC. Understanding and Managing Methotrexate Nephrotoxicity. *The Oncologist.* 2006; 11: 694–703.
65. Bleyer WA. Methotrexate: clinical pharmacology, current status and therapeutic guidelines. *Cancer Treat Rev.* 1977; 4: 87–101.

66. Jaffe N, Robertson FI, Ayala A, Wallace S, Chuang V, Anzai I, et al. Comparison intraarterial cis-diamminedichloroplatinum II with high-dose methotrexate and citrovorum factor rescue in the treatment of primary osteosarcoma. *J Clin Oncol.* 1985; 3: 1101-4.
67. Stoller RG, Hande KR, Jacobs SA, Rosenberg SA, Chabner BA. Use of plasma pharmacokinetics to predict and prevent methotrexate toxicity. *N Engl J Med* 1977;297:630-4.
68. Singh I, Tsang KY, Ludwig GD. Alkaline phosphatase and ultrastructural alterations in human osteosarcoma cells in tissue culture. *Eur Surg Res.* 1974; 6: 247–263.
69. Bacci G, Longhi A, Ferrari S, et al. Prognostic significance of serum alkaline phosphatase in osteosarcoma of the extremity treated with neoadjuvant chemotherapy: recent experience at Rizzoli Institute. *Oncol Rep.* 2002; 9, 171–175.
70. Ferrari S, Bertoni F, Mercuri M, et al. Predictive factors of disease-free survival for non-metastatic osteosarcoma of the extremity: an analysis of 300 patients treated at the Rizzoli Institute. *Ann Oncol.* 2001; 12: 1145–1150.
71. Bacci G, Ferrari S, Delepine N, et al. Predictive factors of histologic response to primary chemotherapy in osteosarcoma of the extremity: study of 272 patients pre-operatively treated with high-dose methotrexate, doxorubicin, and cisplatin. *J Clin Oncol.* 1998; 16: 658–663.
72. Bacci G, Ferrari S, Sangiorgi L, et al. Prognostic significance of serum lactate dehydrogenase in patients with osteosarcoma of the extremities. *J Chemother.* 1994; 6: 204-210.
73. Beckingsale T, Gerrand C. Osteosarcoma. *Orthopaedics and trauma.* 2010; 24(5): 321-331.
74. Ta H, Dass C, Choong P, Dunstan D. Osteosarcoma treatment: state of the art. *Cancer Metastasis Rev.* 2009; 28: 247-63.
75. Clark JC, Dass CR, Choong PF. A review of clinical and molecular prognostic factors in osteosarcoma. *Journal of Cancer Research Clinical Oncology.* 2007;134:281– 297.

76. Kosei Ando K, Heymann MF, Stresing V, Mori K, Rédini F, Heymann D. Current Therapeutic Strategies and Novel Approaches in Osteosarcoma. *Cancers*. 2013;5:591-616.

Tabela I - Tipos de osteossarcoma. Classificação com base na análise histológica.(modificado de Unni KK, Inwards CY, eds. Dahlin's Bone Tumors: General aspects and data on 10.165 cases. 6th ed. Philadelphia, PA 19013 USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2010)

Osteossarcoma intramedular clássico

Osteoblásticos

Condroblásticos

Fibroblásticos

Mistos

Rico em células gigantes

Tipo fibrohistiocitoma maligno

Parcialmente telangiectásico

Osteossarcoma de Superfície

Osteossarcoma Paraosteal (Justacortical de Baixo Grau)

Osteossarcoma Periosteal (Justacortical de Grau Intermédio)

Osteossarcoma de Superfície de Alto Grau

Outras Variantes de Osteossarcoma

Osteossarcoma de Células Pequenas

Osteossarcoma Intra-Ósseo bem diferenciado (Baixo Grau)

Osteossarcoma Telangiectásico

Osteossarcoma Secundário à Irradiação

Osteossarcoma Secundário à Doença de Paget

Osteossarcoma Multicêntrico

Tabela II - Classificação do osteossarcoma quanto ao grau de diferenciação.(modificado de Unni KK, Inwards CY, eds. Dahlin's Bone Tumors: General aspects and data on 10.165 cases. 6th ed. Philadelphia, PA 19013 USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2010)

Tipo	Caraterísticas
Osteossarcoma de alto grau	Osteossarcoma de crescimento rápido. Análise microscópica com grande quantidade de células em processo de divisão celular ativa e sem evidência de tecido ósseo normal. É tipo de osteossarcoma mais comumente observado em crianças e jovens.
Osteossarcoma de grau intermédio	Osteossarcoma de crescimento intermédio. São tumores relativamente incomuns e são normalmente tratados como osteossarcoma de baixo grau.
Osteossarcoma de baixo grau	Osteossarcoma de crescimento lento. A maioria do tecido ósseo é constituído por células normais, mas já se observam algumas células em processo de divisão ativo.

Tabela III - Plano de tratamento convencional para o osteossarcoma central após confirmação do diagnóstico definitivo e estadiamento.(Luetke A, Meyers PA, Lewis I, Juergens H. Osteosarcoma treatment – Where do we stand? A state of the art review. Cancer Treatment Reviews. 2014;40:523–532)

-
1. **Quimioterapia neo-adjuvante pré-operatória:** tem uma duração de 9 a 12 semanas. As principais vantagens deste protocolo são: a redução do edema, a diminuição do tamanho do tumor, a ossificação e calcificação da periferia do tumor e o efeito sobre micrometástases;
 2. **Cirurgia:** pode ser ablativa (amputação ou desarticulação do membro) ou de preservação do membro (ressecção do tumor e substituição da falha óssea criada por próteses, auto-enxerto ou homoenxertos). A decisão depende da resposta do tumor ao tratamento pré-operatório, da localização da lesão, da idade do paciente e da perspectiva de crescimento da extremidade;
 3. **Quimioterapia pós-operatória:** composta por 6 ciclos, aplicados num período de aproximadamente 15 semanas após a cirurgia. A manutenção ou não do esquema de quimioterapia, assim como o acréscimo de novas drogas dependem da resposta histológica do tumor à quimioterapia pré-operatória;
 4. **Tratamento das metástases:** aproximadamente 10-20% dos pacientes com osteossarcoma apresentam evidências de doença metastática aquando do diagnóstico. Alguns desses pacientes podem ser candidatos a ressecção cirúrgica das metástases pulmonares. Nos pacientes com doença metastática mais disseminada, a quimioterapia é utilizada para controlar a doença e aliviar os sintomas.
-

Tabela III - Plano de tratamento convencional para o osteossarcoma central após confirmação do diagnóstico definitivo e estadiamento.(Luetke A, Meyers PA, Lewis I, Juergens H. Osteosarcoma treatment – Where do we stand? A state of the art review. Cancer Treatment Reviews. 2014;40:523–532)

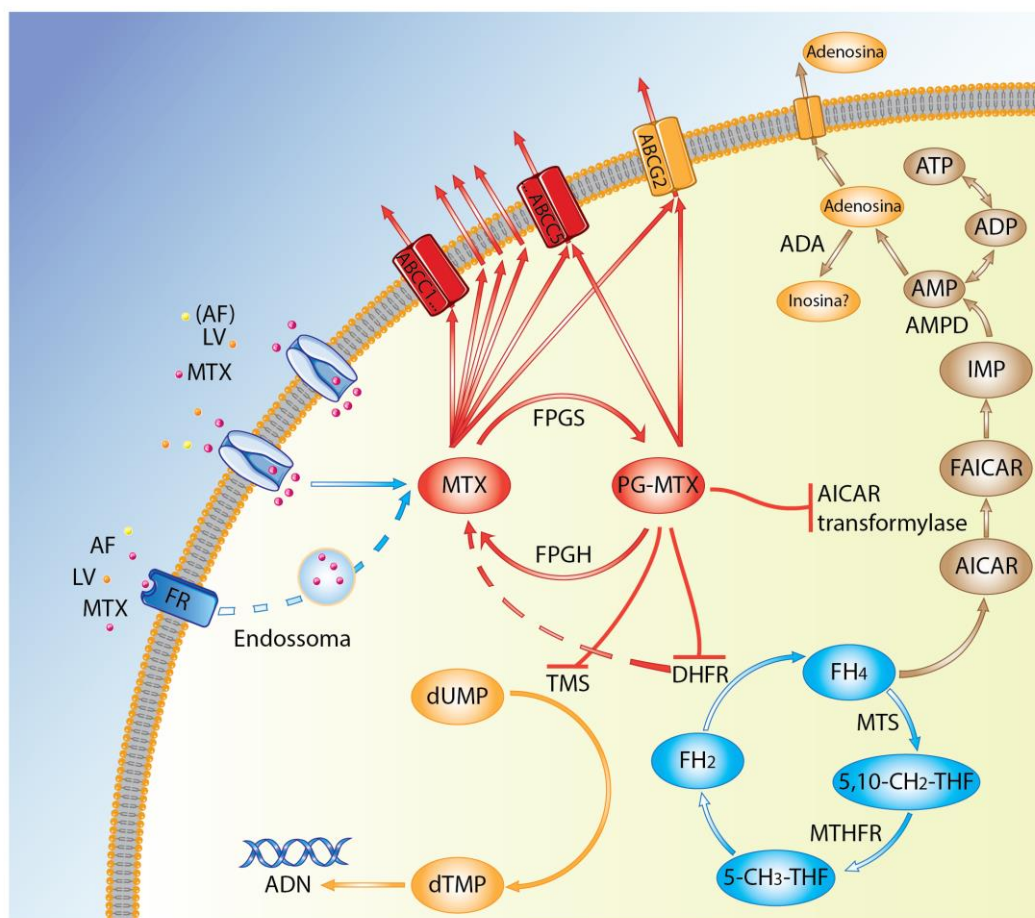


Fig. 1: Efeitos celulares do MTX: transporte, formação dos poliglutamatos de MTX e efeitos intracelulares (modificado de Davila, L. & Ranganathan, P. (2011) Pharmacogenetics: implications for therapy in rheumatic diseases *Nat. Rev. Rheumatol.* doi:10.1038/nrrheum.2011.117) TMS: timidilato sintetase; DHFR: dihidrofolatoreductase; MTXPG: poliglutamatos de MTX; AICAR: carboxiamida aminoimidazol adenosina ribonucleótido; dUMP: desoxiuridina monofosfato; dTMP: desoxitimidina monofosfato; GGH: gamaglutamil hidroxilase; FPGS: folipoliglutamato sintetase; MTHFR: Metileno Tetrahydrofolato Reductase